



Daniela Alexandra Semedo Agostinho

Licenciada em Ciências da Engenharia Química e Bioquímica

**Síntese de aerogéis de carragenano
para aplicação em sistemas de
libertação controlada de compostos
com interesse na indústria
farmacêutica**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia
Química e Bioquímica

Orientadora: Doutora Márcia Ventura, FCT-UNL

Co-orientadora: Doutora Ana Nunes, FCT-UNL

Co-orientadora: Professora Doutora Isabel Fonseca, FCT-UNL

Júri:

Presidente: Professor Doutor Mário Eusébio, FCT-UNL

Arguente: Doutora Teresa Casimiro, FCT-UNL



FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Março, 2018

Daniela Alexandra Semedo Agostinho

Licenciada em Ciências da Engenharia Química e Bioquímica

**Síntese de aerogéis de carragenano
para aplicação em sistemas de
libertação controlada de compostos
com interesse na indústria farmacêutica**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia
Química e Bioquímica

Orientadora: Doutora Márcia Ventura, FCT-UNL

Co-orientadora: Doutora Ana Nunes, FCT-UNL

Co-orientadora: Professora Doutora Isabel Fonseca, FCT-UNL

Júri:

Presidente: Professor Doutor Mário Eusébio, FCT-UNL

Arguente: Doutora Teresa Casimiro, FCT-UNL

Março 2018

Síntese de aerogéis de carragenano para aplicação em sistemas de libertação controlada de compostos com interesse na indústria farmacêutica

Copyright © Daniela Alexandra Semedo Agostinho, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

*“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar
seria menor se lhe faltasse uma gota”*

- Madre Teresa de Calcutá

Agradecimentos

Gostaria de começar por fazer um agradecimento muito especial à minha orientadora, Doutora Márcia Ventura, pela oportunidade, ajuda e apoio dado, por toda a paciência que teve comigo, pela simpatia, por toda a disponibilidade e pelos conhecimentos que me transmitiu, um muito obrigado por tudo.

Quero agradecer à Doutora Ana Nunes e à Professora Doutora Isabel Fonseca pela oportunidade que me foi dada, pela orientação e por toda a ajuda dada ao longo deste trabalho.

Um agradecimento extra à Doutora Ana Nunes e à Mestre Inês Paninho pela secagem dos géis de κ -carragenano.

Agradeço também à Mestre Teresa Cordeiro pela realização do DSC e pela ajuda prestada no tratamento dos gráficos.

Ao Doutor Luís Branco pelos líquidos iónicos cedidos e pela oportunidade que me deu em poder aprender a sintetizar um dos líquidos iónicos que se utilizou neste trabalho. Obrigada ao Doutor Zeljko Petrovski e às auxiliares do laboratório do terceiro piso do departamento de Química por me deixarem utilizar o evaporador rotativo sempre que foi necessário.

Gostaria de agradecer também à Dona Palminha por toda a simpatia, disponibilidade, paciência, ajuda que me deu durante este ano e pelos momentos em que dávamos “dois dedos de conversa”.

Quero agradecer a toda a minha família, especialmente aos meus pais e ao meu irmão, por tudo o que têm feito por mim, por estarem sempre ao meu lado, pela paciência e por compreenderem o meu mau humor característico e aos meus pequenos por me fazerem rir com as suas gracinhas.

Na faculdade tive a sorte de fazer bons amigos que me acompanharam durante estes anos, a eles quero agradecer por todos os ótimos momentos que passamos juntos, todos os momentos de descontração (especialmente os das quedas) e momentos de trabalho e interajuda. Um agradecimento muito especial ao Tiago Ferreira por me ter acompanhado durante estes anos, especialmente nestes últimos tempos, por toda a ajuda, ânimo, apoio, companhia e conselhos que me deu. Quero agradecer também aos meus amigos, exteriores à faculdade, por tudo que já passamos juntos, por me apoiarem e por compreenderem a minha ausência nos últimos tempos.

Resumo

A recente procura por polímeros naturais devido às suas características favoráveis para a utilização em diversas áreas como a indústria farmacêutica, tem vindo a promover a tentativa de encontrar métodos mais eficientes, limpos e, portanto, mais sustentáveis para a sua extração.

Os líquidos iónicos têm sido propostos como solventes alternativos na extração e na dissolução de polissacarídeos. Assim sendo, neste trabalho, a eficiência de alguns LIs para extrair carragenano foi averiguado com o objetivo destes poderem vir a substituir os solventes orgânicos utilizados nos processos de extração tradicionais, que são mais tóxicos e voláteis que os LIs.

O carragenano é um polissacarídeo, extraído a partir de algas vermelhas, com características muito favoráveis para aplicações farmacêuticas e alimentares.

Neste trabalho extraiu-se carragenano a partir da alga *Chondrus crispus*, utilizando soluções alcalinas (extração tradicional), H₂O e LIs em diferentes concentrações.

Os géis de κ -car, foram sintetizados com adição de sais e por dissolução em LIs, posteriormente foram secos por scCO₂.

Diversas técnicas de caracterização foram utilizadas para estudar o carragenano extraído (FTIR-ATR e DSC), bem como os aerogéis de κ -car sintetizados (FTIR-ATR, TGA, DSC, ASAP e SEM). A estrutura porosa dos aerogéis de polissacarídeos detém características apelativas à aplicação na indústria farmacêutica, como sistemas libertação controlada de fármacos, e por isso neste trabalho estudou-se a libertação de dois fármacos a partir de aerogéis de κ -car.

A libertação da teofilina e da tetraciclina foi estudada a um pH de 7,4 e a 37°C de modo a simular uma libertação no intestino. A tetraciclina demonstrou ter maior afinidade que a teofilina com os aerogéis de κ -car sintetizados, uma vez que a libertação do fármaco foi mais prolongada.

Palavras-Chave: κ -carragenano, Líquidos iónicos, Aerogéis, Libertação de fármacos, Teofilina, Tetraciclina.

Abstract

The recent demand for natural polymers, due to their favorable application in areas such as the pharmaceutical industry, has prompted the attempt to find more efficient, clean and sustainable methods for their extraction.

Ionic liquids (ILs) have been proposed as alternative solvents in the extraction and dissolution of polysaccharides. On this work, the extraction efficiency of some ILs for the carrageenan was investigated, aiming a replacement for the more toxic and volatile organic solvents used in the traditional extraction processes.

Being a polysaccharide, carrageenan can be extracted from red algae, and presents very specific characteristics that allow its usage in many different fields (e.g. pharmaceutical and food industries).

In this thesis, carrageenan was extracted from *Chondrus crispus*, using alkaline solutions - which are part of the traditional extraction, H₂O and ILs in different concentrations.

The κ -car gels were synthesized by adding salts and by dissolution in ILs, followed by a drying procedure using scCO₂.

Several characterization techniques were used to study the extracted carrageenan (FTIR-ATR and DSC), as well as synthesized κ -car aerogels (FTIR-ATR, TGA, DSC, ASAP and SEM). The porous structure of the polysaccharide aerogels has characteristics that are suitable for application in the pharmaceutical industry, such as controlled drug delivery systems, and therefore the release of two drugs from κ -car aerogels was studied in this work.

The release of theophylline and tetracycline was studied at a pH of 7.4 and at 37 °C to simulate an *in-body* release. Tetracycline was shown to have higher affinity than theophylline with the synthesized κ -car aerogels, since drug release took longer.

Keywords: κ -carrageenan, ionic liquids, aerogels, drug release, theophylline, tetracycline.

Índice

Agradecimentos.....	VII
Resumo.....	IX
Abstract	XI
Índice.....	XIII
Índice de Figuras	XVII
Índice de tabelas	XXIII
Siglas e Acrónimos	XXV
1. Introdução	1
1.1. Objetivos	1
1.2. O Carragenano.....	2
1.3. Processos de Extração do Carragenano.....	4
1.4. Atividade Biológica e Toxicidade do Carragenano	5
1.5. Aplicações do Carragenano.....	6
1.5.1. Indústria Alimentar	6
1.5.2. Indústria Farmacêutica	6
1.6. Sistemas de Libertação de Fármacos.....	8
1.6.1. Modelos Cinéticos.....	10
1.7. Hidrogéis e Aerogéis de Polissacarídeos.....	12
1.7.1. Hidrogéis	12
1.7.2. Aerogéis e Secagem Supercrítica	13
1.8. Líquidos iônicos como solventes de polímeros naturais	15
1.9. Técnicas de Caracterização	17
1.9.1. Espectroscopia de FTIR	17
1.9.2. Análise Termogravimétrica (TGA)	17

1.9.3.	Calorimetria Diferencial de Varrimento (DSC)	18
1.9.4.	Porosimetria por Adsorção de Azoto (ASAP)	18
1.9.5.	Microscopia Eletrónica de Varrimento (SEM).....	19
2.	Materiais e Métodos	21
2.1.	Extração do Carragenano	23
2.1.1.	Extração do Carragenano pelo Processo Tradicional	23
2.1.2.	Extracção do Carragenano com LIs	24
2.2.	Preparação de Géis de Carragenano	26
2.2.1.	Preparação de Géis de κ -car com a Adição de Sais.....	26
2.2.2.	Preparação de Géis de κ -car por Dissolução em LIs	28
2.3.	Secagem dos Géis com CO ₂ Supercrítico	29
2.4.	Impregnação e Testes de Libertação de Fármacos	31
2.4.1.	Impregnação dos Fármacos nas Amostras de Aerogel.....	31
2.4.2.	Testes de Libertação de Fármacos.....	34
2.4.2.1.	Determinação dos Totais	34
2.4.2.2.	Ensaio de Libertação de Fármacos	35
2.5.	Testes de caracterização	36
2.5.1.	Espectroscopia de FTIR-ATR.....	36
2.5.2.	Análises térmicas por TGA e DSC.....	36
2.5.3.	Porosimetria por Adsorção de Azoto (ASAP)	37
2.5.4.	Microscopia Eletrónica de Varrimento (SEM).....	37
3.	Resultados e discussão	39
3.1.	Extracção de Carragenano a partir da Alga musgo irlandês.....	39
3.2.	Géis de κ -car	47
3.3.	Secagem de Géis com CO ₂ Supercrítico	48
3.4.	Testes de Caracterização	52
3.4.1.	Caracterização do Carragenano Extraído	52
3.4.1.1.	Espectroscopia de FTIR-ATR.....	52

3.4.1.2.	Colorimetria diferencial de varrimento (DSC).....	58
3.4.2.	Caracterização de aerogéis de κ -carragenano.....	61
3.4.2.1.	Microscopia eletrónica de varrimento (SEM).....	61
3.4.2.2.	Porosimetria por adsorção de azoto (ASAP).....	63
3.4.2.3.	Espectroscopia de FTIR-ATR.....	66
3.4.2.4.	Análise termogravimétrica (TGA)	69
3.4.2.5.	Calorimetria diferencial de varrimento (DSC)	70
3.5.	Análise da libertação de fármacos	72
3.5.1.	Ensaio de libertação da teofilina	72
3.5.2.	Ensaio de libertação da tetraciclina	77
3.5.3.	Modelos cinéticos.....	81
4.	Conclusões	85
5.	Bibliografia	89
6.	Anexos.....	103
6.1.	Processo industrial de extracção de κ -car.....	103
6.2.	Síntese de [bmim][Ac]	104
6.3.	Processo de extracção realizado em laboratório.....	105
6.4.	Folha de especificação da alga musgo irlandês, utilizada	106
6.5.	Dimensões dos Hidrogéis e dos Aerogéis e perda de volume do Aerogéis.	107
6.6.	Espectroscopia de FTIR	110
6.7.	DSC	121
6.8.	TGA.....	123
6.9.	Retas de calibração – Ensaio de libertação dos fármacos.....	124
6.10.	Retas de calibração – Determinação do total (teofilina)	125
6.11.	Gráficos dos modelos cinéticos.....	126
6.12.	Mecanismo de Korsmeyer-Peppas	128

Índice de Figuras

Figura 1.1 - <i>Chondrus crispus</i> [15].	2
Figura 1.2 - Estrutura do kappa (κ), do lambda (λ) e do iota (ι) [179].	3
Figura 1.3 - Concentração do fármaco em função do tempo para a libertação convencional (preta) e para a libertação controlada (azul) (adaptado de [60]).	9
Figura 1.4 - Processo de produção de um aerogel [65].	14
Figura 2.1 - LIs utilizados (a) [bmim][Ac], (b) [bmim][Cl], (c) [THMP][Cl], (d) [Ch][HMal]	21
Figura 2.2 - Alga utilizada para a extracção (<i>Chondrus crispus</i>).	23
Figura 2.3 - Mecanismo de gelificação do κ -car na presença de iões de potássio [131].	26
Figura 2.4 - κ -car utilizado na preparação dos géis.	27
Figura 2.5 - Montagem para a realização de géis de κ -car com adição de sais.	28
Figura 2.6 - Montagem para a secagem de géis com scCO_2 .	30
Figura 2.7 - Estrutura química da teofilina (à esquerda) [139] e teofilina em pó (à direita).	32
Figura 2.8 - Estrutura química da tetraciclina (à esquerda) [150] e tetraciclina em pó (à direita).	33
Figura 3.1 - Precipitação da massa extraída (esquerda) e após secagem (carragenano) (direita) utilizando a solução aquosa de NaOH.	41
Figura 3.2 - Precipitação da massa extraída (esquerda) e após secagem (carragenano) (direita) utilizando a solução aquosa de $\text{Ca}(\text{OH})_2$.	41
Figura 3.3 - Precipitação da massa extraída (esquerda) e após secagem (carragenano) (direita) utilizando H_2O .	41
Figura 3.4 - Precipitação do extrato obtido por extracção com 1% (à esquerda) e 10% (à direita) de [bmim][Ac].	44
Figura 3.5 - Precipitação do extrato obtido por extracção com 10% (à esquerda) e 1% (à direita) [Ch][HMal].	44
Figura 3.6 - Precipitação do extrato obtido por extracção com 10% (à esquerda) e 1% (à direita) de [THMP][Cl].	45

Figura 3.7 - Fotografias dos alcogéis (direita) e os géis secos (esquerda). 1-[2%κ-car]:[KSCN] 2- [2%κ-car]:[KCl] 3- [2%κ-car]:[bmim][Ac] 4- [10%κ-car]:[bmim][Ac] 5- [2%κ-car]:[bmim][Cl] 6- [10%κ-car]:[bmim][Cl].	49
Figura 3.8 - Gel [2%κ-car]:[KSCN], (à esquerda) e gel [2%κ-car]:[bmim][Ac](à direita), secos por liofilização.	51
Figura 3.9 - Espectro de FTIR do κ-car puro.	53
Figura 3.10 - Espectros de FTIR do κ-car extraído com soluções alcalinas e com água em autoclave em comparação com κ-car puro.	53
Figura 3.11 - Espectros de FTIR do κ-car extraído com soluções alcalinas e com água em autoclave em comparação com κ-car puro (1300 cm ⁻¹ a 820 cm ⁻¹).	54
Figura 3.12 - Espectros de FTIR do κ-car extraído com 1% e 10% de [Ch][HMal], do [Ch][HMal] e do κ-car puro.	54
Figura 3.13 - Espectros FTIR do κ-car extraído com 1% e 10% de [Ch][HMal], do [Ch][HMal] e do κ-car puro (1300 cm ⁻¹ a 820 cm ⁻¹).	55
Figura 3.14 - Espectros de FTIR do κ-car extraído com 1% e 10% de [bmim][Ac], do [bmim][Ac] e do κ-car puro.	55
Figura 3.15 - Espectros de FTIR do κ-car extraído com 1% e 10% de [bmim][Ac], do [bmim][Ac] e do κ-car puro (1300 cm ⁻¹ a 820 cm ⁻¹).	56
Figura 3.16 - Espectros de FTIR do κ-car extraído de alga moída à T=85°C com 1% e 10% de [bmim][Ac], do [bmim][Ac] e do κ-car puro.	56
Figura 3.17 - Espectros de FTIR do κ-car extraído de alga moída à T=85°C com 1% e 10% de [bmim][Ac], do [bmim][Ac] e do κ-car puro (1300 cm ⁻¹ a 820 cm ⁻¹).	57
Figura 3.18 - Espectros de FTIR do κ-car extraído com 1% de [THMP][Cl], do [THMP][Cl] e do κ-car puro.	57
Figura 3.19 - Espectros de FTIR do κ-car extraído com 1% de [THMP][Cl], do [THMP][Cl] e do κ-car puro (de 1300 cm ⁻¹ a 820 cm ⁻¹).	58
Figura 3.20 - Termograma obtido para o κ-car extraído com 1% de [bmim][Ac].	59
Figura 3.21 - 1ª e 2ª curva de aquecimento obtidas nos termogramas do κ-car extraído com 1% de [bmim][Ac] e do [bmim][Ac].	59
Figura 3.22 - Termograma obtido para o κ-car extraído com 1% de [Ch][HMal] (à esquerda); 1ª curva de aquecimento para o κ-car e [Ch][HMal] (à direita).	59

Figura 3.23 - Termograma obtido para o κ -car extraído com 1% de [THMP][Cl] (à esquerda); 1ª curva de arrefecimento e aquecimento para o [THMP][Cl] (à direita).	60
Figura 3.24 – Imagens SEM para a secção transversal dos géis secos de κ -car produzidos numa solução aquosa com adição de sais e por dissolução em LIs: (a) [2% κ -car]:[KCl], (b) [2% κ -car]:[KSCN], (c) [2% κ -car]:[bmim][Ac], (d) [10% κ -car]:[bmim][Ac], (e) [2% κ -car]:[bmim][Cl] e (f) [10% κ -car]:[bmim][Cl].	62
Figura 3.25 - Distribuição do volume de poros (cumulativo (azul) e diferencial (laranja)) pelo método NLDFT dos diferentes aerogéis produzidos.....	65
Figura 3.26 - Espectro de FTIR dos aerogéis [2% κ -car]:[KCl] e [2% κ -car]:[KSCN], em comparação com κ -car puro.	66
Figura 3.27 - Espectro de FTIR dos aerogéis [2% κ -car]:[KCl] e [2% κ -car]:[KSCN], em comparação com κ -car puro (1300 cm ⁻¹ a 820 cm ⁻¹).....	67
Figura 3.28 - Espectros de FTIR do aerogel de [2% κ -car]:[bmim][Ac], em comparação com κ -car puro e com o [bmim][Ac].....	67
Figura 3.29 - Espectros de FTIR do aerogel de [2% κ -car]:[bmim][Ac], em comparação com κ -car puro e com o [bmim][Ac] (1300 cm ⁻¹ a 820 cm ⁻¹).	68
Figura 3.30 - Espectros de FTIR do aerogel de [2% κ -car]:[bmim][Cl], em comparação com κ -car puro e com o [bmim][Cl].....	69
Figura 3.31 - Espectros de FTIR do aerogel de [2% κ -car]:[bmim][Cl], em comparação com κ -car puro e com o [bmim][Cl] (1300 cm ⁻¹ a 820 cm ⁻¹).	69
Figura 3.32 - Gráfico dos resultados obtidos por TGA para os 4 aerogéis κ -car obtidos e para o κ -car puro.	69
Figura 3.33 - Termogramas obtidos para os aerogéis: (a) - [2% κ -car]:[KCl]; (b) - [2% κ -car]:[KSCN]; (c) - [2% κ -car]:[bmim][Ac]; (d) - [2% κ -car]:[bmim][Cl].	71
Figura 3.34 - Perfis de dissolução da teofilina para as amostras (valores calculados utilizando o valor de fármaco total libertado no final de cada ensaio) (a) [2% κ -car]:[KCl] _{tf} e (b) [2% κ -car]:[bmim][Ac] _{tf} ; (c) [2% κ -car]:[bmim][Ac] _{tfscCO2} ao longo do tempo (1º, 2º ensaio e média); (d) Perfil de dissolução (valor médio) da teofilina em matrizes de κ -car.	74
Figura 3.35 - Perfis de dissolução da tetraciclina para as amostras (valores calculados utilizando o valor de fármaco total libertado no final de cada ensaio) (a) [2% κ -car]:[KCl] _{tc} ao longo do tempo (1º, 2º ensaio e média); (b) [2% κ -car]:[bmim][Ac] _{tc} ao longo do tempo (1º, 2º e 3º ensaio e média); (c) Perfil de dissolução (valor médio) da tetraciclina em matrizes de κ -car.	78
Figura 6.1 - Extracção do κ -car (adaptado de: [180]).	103

Figura 6.2 - Esquema referente à extracção do carragenano realizada em laboratório.	105
Figura 6.3 - Embalagem da alga utilizada na extracção do carragenano.	106
Figura 6.4 - Espectro de FTIR do κ -car puro.	110
Figura 6.5 - Espectro de FTIR do κ -car extraído com NaOH (0,5%).	110
Figura 6.6 - Espectro de FTIR do κ -car extraído com $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (0,5%).	111
Figura 6.7 - Espectro de FTIR do κ -car extraído com H_2O	111
Figura 6.8 - Espectro de FTIR do LI [Ch][HMal].....	112
Figura 6.9 - Espectro de FTIR do κ -car extraído com 1% de [Ch][HMal].	112
Figura 6.10 - Espectro de FTIR do κ -car extraído com 10% de [Ch][HMal].	113
Figura 6.11 - Espectro de FTIR do LI [bmim][Ac].....	113
Figura 6.12 - Espectro de FTIR do κ -car extraído com 1% de [bmim][Ac].	114
Figura 6.13 - Espectro de FTIR do κ -car extraído com 10% de [bmim][Ac].	114
Figura 6.14 - Espectro de FTIR do κ -car extraído fora da autoclave à $T=85^\circ\text{C}$ com 1% de [bmim][Ac].	115
Figura 6.15 - Espectro de FTIR do κ -car extraído fora da autoclave à $T=85^\circ\text{C}$ com 10% de [bmim][Ac].	115
Figura 6.16 - Espectro de FTIR do LI [THMP][Cl].....	116
Figura 6.17 - Espectro de FTIR do κ -car extraído com 1% de [THMP][Cl].	116
Figura 6.18 - Espectro de FTIR do aerogel de 2% (m/v) de κ -car em água, com adição de KSCN 0,6M.	118
Figura 6.19 - Espectro de FTIR do aerogel de 2% (m/v) de κ -car em água, com adição de KCl 0,6M.	118
Figura 6.20 - Espectro de FTIR do aerogel de 2% (m/m) de κ -car por dissolução em [bmim][Ac].	119
Figura 6.21 - Espectro de FTIR do LI [bmim][Cl].	119
Figura 6.22 - Espectro de FTIR do aerogel de 2% (m/m) de κ -car por dissolução em [bmim][Cl].	120
Figura 6.23 - DSC do κ -car puro.....	121
Figura 6.24 - DSC do LI: [bmim][Ac] (à esquerda) e [bmim][Cl] (à direita).....	121

Figura 6.25 - DSC do LI; [Ch][HMal] (à esquerda) e [THMP][Cl] (à direita).	121
Figura 6.26 - Excerto dos termogramas (1 ^a ciclo de aquecimento) do aerogel [2%κ-car]:[bmim][Ac] (vermelho) e do [bmim][Ac] (verde) para análise da ocorrência da temperatura de transição vítrea (Tg).	122
Figura 6.27 - Excerto dos termogramas (1 ^o ciclo de aquecimento) do aerogel [2%κ-car]:[bmim][Cl] (verde) e do [bmim][Cl] (vermelho), para análise da ocorrência de temperatura de transição vítrea (Tg).	122
Figura 6.28 - Curvas referentes à 1 ^a derivada do termograma obtido por TGA para o κ-car puro e para os aerogéis [2%κ-car]:[KCl], [2%κ-car]:[KSCN], [2%κ-car]:[bmim][Ac] e [2%κ-car]:[bmim][Cl].	123
Figura 6.29 - Retas de calibração utilizadas no cálculo da concentração de Teofilina libertada a partir dos vários aerogéis: (a) [2%κ-car]:[bmim][Ac] _{tf} ; (b) [2%κ-car]:[bmim][Ac] _{tfscCO₂} ; (c) [2%κ-car]:[KCl] _{tf}	124
Figura 6.30 - Retas de calibração utilizadas no cálculo da concentração de Tetraciclina libertada a partir dos vários aerogéis: [2%κ-car]:[bmim][Ac] _{tc} : Ensaio 1(a1), Ensaio (a2), Ensaio 3 (a3); (b) [2%κ-car]:[KCl] _{tc}	124
Figura 6.31 - Retas de calibração utilizadas no cálculo da concentração total de Teofilina libertada a partir dos vários aerogéis: (a) [2%κ-car]:[bmim][Ac] _{tf} ; (b) [2%κ-car]:[bmim][Ac] _{tfscCO₂} ; (c) [2%κ-car]:[KCl] _{tf}	125
Figura 6.32 - Equações das retas dos vários modelos cinéticos da libertação da teofilina: (a) K.- Peppas; (b) Higuchi; (c) 1 ^a ordem; (d) ordem zero; (e) Hixson-Crowell e (1) [2%κ-car]:[bmim][Ac] _{tf} ; (2) [2%κ-car]:[bmim][Ac] _{tfscCO₂} ; (3) [2%κ-car]:[KCl] _{tf}	126
Figura 6.33 - Equações das retas dos vários modelos cinéticos da libertação da tetraciclina: (a) K.- Peppas; (b) Higuchi; (c) 1 ^a ordem; (d) ordem zero; (e) Hixson-Crowell e (1) [2%κ-car]:[bmim][Ac] _{tc} ; (2) [2%κ-car]:[KCl] _{tc}	127

Índice de tabelas

Tabela 2.1 - Características dos LIs utilizados.....	22
Tabela 3.1 - Rendimento médio de extração a partir de 2 g de alga seca e utilizando unicamente H ₂ O como solvente de extração.....	39
Tabela 3.2 - Rendimento médio de extração a partir de 2g de alga seca e utilizando uma solução aquosa de NaOH (0,5%) como solvente de extração.	40
Tabela 3.3 - Rendimento médio de extração a partir de 2g de alga seca e utilizando uma solução aquosa de Ca(OH) ₂ (0,5%) como solvente de extração.....	40
Tabela 3.4 - Rendimento de extração obtido a partir de 1 g de alga seca e utilizando respectivamente [bmim][Ac] 1% (m/v) em H ₂ O como solvente de extração.	42
Tabela 3.5 - Rendimento de extração obtido a partir de 0,5 g de alga seca e utilizando respectivamente [bmim][Ac] 10% (m/v) em H ₂ O como solvente de extração.	42
Tabela 3.6 - Rendimento de extração obtido a partir de 0,5 g de alga seca e utilizando [Ch][Mal] 1% e 10% (m/v) em H ₂ O como solvente de extração.....	43
Tabela 3.7 - Rendimento de extração obtido a partir de 0,5 g de alga seca e utilizando [THMP][Cl] 1% e 10% (m/v) em H ₂ O como solvente de extração.	43
Tabela 3.8 - Rendimento de extração a partir de 1 g de alga seca e moída, fora do autoclave utilizando [bmim][Ac] 1% e 10% em H ₂ O (m/v) como solvente de extração.	44
Tabela 3.9 - Volume médio dos hidrogéis e aerogéis e percentagem de volume perdido de vários géis.	50
Tabela 3.10 - Parâmetros texturais das matrizes de κ -car produzidas por dissolução nos diferentes solventes utilizados.	63
Tabela 3.11 - Quantidade total (média) de teofilina impregnada por grama de aerogel.	73
Tabela 3.12 - Quantidade total (média) de tetraciclina impregnada por grama de aerogel.....	77
Tabela 3.13 - Valores referentes à libertação linear (Taxa, Percentagem e R ²), Percentagem final de libertação e tempo decorrido até os 100% de libertação da Teofilina e da Tetraciclina.	82
Tabela 3.14 - R ² nos vários modelos cinéticos para a libertação da teofilina e da tetraciclina. .	83
Tabela 3.15 - Parâmetros cinéticos da libertação da teofilina e da tetraciclina.....	84
Tabela 6.1 - Dimensões dos Hidrogéis e Aerogéis [2% κ -car]:[KSCN].	107
Tabela 6.2 - Dimensões dos Hidrogéis e Aerogéis [2% κ -car]:[KCl].	107

Tabela 6.3 - Dimensões dos Hidrogéis e Aerogéis [2%κ-car]:[bmim][Cl].	108
Tabela 6.4 - Dimensões dos Hidrogéis e Aerogéis [10%κ-car]:[bmim][Cl].	108
Tabela 6.5 - Dimensões dos Hidrogéis e Aerogéis [2%κ-car]:[bmim][Ac].	109
Tabela 6.6 - Dimensões dos Hidrogéis e Aerogéis [10%κ-car]:[bmim][Ac].	109
Tabela 6.7 - Comprimentos de onda referentes às bandas mais relevantes da análise de FTIR, realizada ao κ-car puro e ao carragenano extraído com os diferentes solventes.	117
Tabela 6.8 - Expoentes para o mecanismo de Korsmeyer-Peppas [72] [73] [74] [69] [70] [71].	128

Siglas e Acrónimos

κ-car	κ-carragenano
ι-car	ι-carragenano
λ-car	λ-carragenano
[bmim][Cl]	Cloreto de 1-butil-3-metilimidazólio
[bmim][Ac]	Acetato de 1-butil-3-metilimidazólio
[Ch][HMal]	Maleato de Colina
[THMP][Cl]	Cloreto de tetrakis(hidroximetil)fosfónio 80% em água
LI(s)	Líquido(s) iónico(s)
[2%κ-car]:[KCl]	Gel de 2% κ-car sintetizado com adição de KCl
[2%κ-car]:[KSCN]	Gel de 2% κ-car sintetizado com adição de KSCN
[2%κ-car]:[bmim][Ac]	Gel de 2% κ-car sintetizado por dissolução em [bmim][Ac]
[10%κ-car]:[bmim][Ac]	Gel de 10% κ-car sintetizado por dissolução em [bmim][Ac]
[2%κ-car]:[bmim][Cl]	Gel de 2% κ-car sintetizado por dissolução em [bmim][Cl]
[10%κ-car]:[bmim][Cl]	Gel de 10% κ-car sintetizado por dissolução em [bmim][Cl]
[2%κ-car]:[bmim][Ac]_{tf}	Aerogel de 2% κ-car sintetizado por dissolução em [bmim][Ac] e com teofilina impregnada
[2%κ-car]:[bmim][Ac]_{tfscCO2}	Aerogel de 2% κ-car sintetizado por dissolução em [bmim][Ac] e com teofilina impregnada por scCO ₂
[2%κ-car]:[KCl]_{tf}	Aerogel de 2% κ-car sintetizado com adição de KCl e com teofilina impregnada
[2%κ-car]:[bmim][Ac]_{tc}	Aerogel de 2% κ-car sintetizado por dissolução em [bmim][Ac] e com tetraciclina impregnada
[2%κ-car]:[KCl]_{tc}	Aerogel de 2% κ-car sintetizado com adição de KCl e com tetraciclina impregnada
FTIR-ATR	Fourier Transform InfraRed - Attenuated total reflectance
TGA	Thermogravimetric analysis
DSC	Differential scanning calorimetry
ASAP	Accelerated Surface Area and Porosimetry
SEM	Scanning Electron Microscope
scCO₂	Supercritical CO ₂

1. Introdução

1.1. Objetivos

A utilização de polímeros naturais na indústria farmacêutica tem vindo a acentuar-se ao longo dos anos o que é devido essencialmente ao facto de apresentarem características muito favoráveis à aplicação na indústria farmacêutica, como por exemplo serem seguros, não tóxicos, biocompatíveis e biodegradáveis [1] [2]. Os polímeros naturais são extraídos de plantas, animais e algas, recursos naturais considerados renováveis se bem geridos. De entre os polímeros naturais utilizados, o carragenano (extraído a partir de algas vermelhas, entre elas a alga *musgo irlandês* muito abundante no atlântico norte) tem sido recentemente reportado em utilizações neste tipo de indústria para além da alimentar onde é tradicionalmente utilizado [3] [4]. A crescente procura destes polímeros para utilização em áreas que não apenas a alimentar tem vindo a promover a tentativa de estabelecimento de métodos mais eficientes, limpos e, portanto, mais sustentáveis para a sua extração. Nesta demanda por processos novos de extração e/ou dissolução de polímeros, os líquidos iónicos (LIs) têm desempenhado um papel importante, inclusive em processos de extração de polissacarídeos de algas [5] [6] [7]. Desta forma foi considerado importante verificar a eficiência de alguns LIs para extrair o carragenano e compará-la à dos solventes mais tradicionais.

Ao longo dos anos a medicina tem evoluído bastante, e a área referente à formulação e libertação de fármacos não é exceção. Assim sendo, foram surgindo novos materiais funcionais (sistemas de libertação controlada de fármacos) que permitem otimizar a libertação dos fármacos de modo a que, estes consigam desempenhar o seu papel terapêutico de forma mais eficiente. Aerogéis de polímeros naturais, materiais biodegradáveis e biocompatíveis com elevada porosidade e área superficial, são vistos como potenciais materiais funcionais para libertação controlada de fármacos. Neste contexto, o carragenano tem vindo a despertar interesse não só pela sua capacidade de formar géis, mas também pelo o facto de possuir grupos funcionais carregados negativamente que lhe conferem alguma seletividade e eventualmente uma maior capacidade de retenção do fármaco. [8] [9] [4]

Deste modo, os objetivos principais deste trabalho são: i) testar líquidos iónicos como solventes alternativos no processo de extração do κ -carragenano (κ -car) a partir da alga *musgo irlandês*, ii) a síntese de aerogéis de carragenano e iii) a impregnação de fármacos nos aerogéis, com vista a uma libertação controlada dos mesmos.

O trabalho desenvolvido dividiu-se em 3 etapas:

- Extração e caracterização do carragenano da alga musgo irlandês;
- Síntese e caracterização de aerogéis de κ -car;
- Impregnação de dois fármacos e determinação do perfil de libertação.

1.2. O Carragenano

O carragenano é um polissacarídeo aniónico sulfatado, extraído de algumas das espécies de algas vermelhas comestíveis da família *Rhodophyceae*, como as espécies *Eucheuma spp.* e *Kappaphycus spp.*, de onde se pode extrair respetivamente o *iota* e o *kappa* carragenano, as espécies *Chondrus crispus* (conhecida também por musgo irlandês, representado na Figura 1.1) e *Gigartina stellata*, a partir das quais se pode extrair o *kappa* e *lambda* carragenano e a espécie *Iridaea spp.* [10] [11] [12] [13] [14].



Figura 1.1 - *Chondrus crispus* [15].

Existem vários tipos de carragenano que diferem entre si pela posição e quantidade do(s) grupo(s) sulfato. Cada tipo de carragenano poderá conter em média 22% a 35% de grupos sulfato. Estas diferenças conferem-lhes propriedades e estruturas químicas distintas [16] [17], por exemplo, quanto maior o teor em éster sulfato menor a temperatura de solubilidade e menor é a resistência do gel formado [17]. Os tipos de carragenano comercializados mais comuns são o *kappa* (κ), o *lambda* (λ) e o *iota* (ι) [18] [14]. Este polissacarídeo é constituído por monómeros de galactose e de anidrogactose ligadas entre si por ligações glicosídicas [17]. O κ -car é composto por unidades alternadas de D-galactose-4-sulfato e 3,6-anidro-D-galactose, sendo que o ι -car é semelhante, diferindo apenas no facto da 3,6-anidro-D-galactose se encontrar sulfatada no carbono

dois. Os monómeros que se alternam na constituição do λ -car são principalmente D-galactose-2-sulfato e D-galactose-2,6-dissulfato. Existe a hipótese de se encontrar na constituição dos vários tipos de carragenano resíduos de outros hidratos de carbono, como glucose, xilose e ácidos urónicos [18].

Na Figura 1.2 é possível ver as diferenças na estrutura dos vários tipos de carragenano.

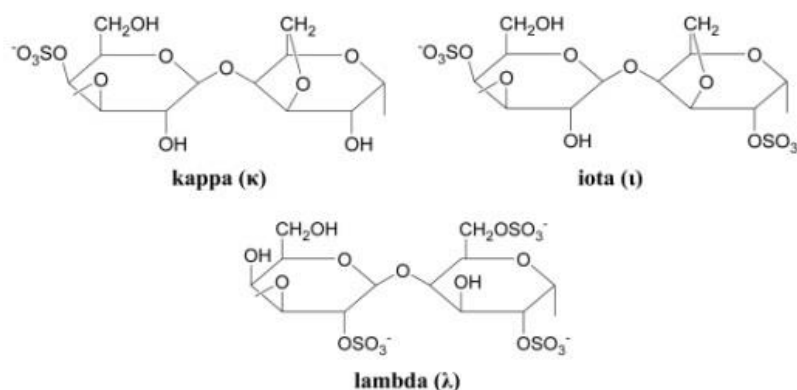


Figura 1.2 - Estrutura do kappa (κ), do lambda (λ) e do iota (ι) [179].

O carragenano do tipo κ e ι conseguem gelificar, enquanto o λ-car não [18]. O ι-car e o κ-car formam géis na presença de sais de cálcio e potássio, respectivamente. Para que a formação dos géis ocorra é necessário aquecer a solução aquosa, onde se encontra o carragenano, acima dos 60°C para que este se dissolva, posteriormente é adicionado o sal e à medida que a solução arrefece o gel forma-se. O gel de κ-car formado com a adição de potássio é um gel rígido e elástico, enquanto que o gel de ι-car com o cálcio é um gel macio e elástico [19]. No processo de gelificação do carragenano, as suas cadeias em espirais abertas e aleatórias juntam-se para formar duplas hélices, formando uma estrutura mais fechada e organizada [18] [14]. As duplas hélices são formadas devido ao processo de reticulação das cadeias adjacentes, nas quais os grupos sulfato estão orientados externamente. No lambda carragenano os grupos sulfato ficam voltados para dentro, impedindo assim que haja a reticulação das cadeias e a formação de uma rede mais organizada (duplas hélices) [20].

1.3. Processos de Extração do Carragenano

De uma forma geral os processos de extração industrial de carragenano envolvem a secagem rápida das algas para evitar que se degradem. As impurezas são posteriormente removidas por lavagens repetidas e são submetidas a testes de qualidade. Na maior parte das extrações, de seguida procede-se ao processo de extração alcalino (normalmente com NaOH e Ca(OH)_2) a quente, o que faz com que o carragenano seja extraído da alga [21] [22].

Vários métodos são utilizados para a remoção do carragenano da solução:

- O método do “congelamento-descongelamento”: A solução é congelada e posteriormente descongelada, seguidamente a água é removida e a massa resultante que é principalmente carragenano é moído até o tamanho desejado (Extração do κ -car);
- O método da precipitação com álcool: A solução é colocada em 2-propanol ou noutros álcoois, levando a uma precipitação do carragenano. Posteriormente os solventes são evaporados e o carragenano que precipitou é seco e moído até ao tamanho pretendido (Extração de κ -car, λ -car e ι -car);
- O método da precipitação com KCl: Depois da extração a quente o filtrado é colocado numa solução fria de 1-1,5% de KCl. O material resultante é desidratado pelo método de pressão (prensa), seco e moído dando origem ao produto de carragenano final (Extração do κ -car) [21] [22].

Extração de κ -car

A nível industrial as algas são de uma forma geral tratadas com uma solução aquosa contendo 5-10% de NaOH a 80-90°C (extração alcalina) por um determinado tempo que depende da textura da alga. Se a extração for a partir de algas da espécie *Furcellaria* e *Eucheuma* é aplicado o processo de precipitação com KCl. O processo de extração é representado com mais detalhe na Figura 6.1 no Anexo 6.1.

Os processos de extração do carragenano são caros, devido à quantidade de energia necessária para colocar o carragenano em solução e depois recuperá-lo até forma do produto final, bem como a grande quantidade de água que é utilizada nas várias etapas do processo [22] [23]. Os solventes de extração utilizados (soluções fortemente alcalinas) são tóxicos, sendo prejudiciais para o meio ambiente.

1.4. Atividade Biológica e Toxicidade do Carragenano

De acordo com os resultados de vários estudos, realizados ao longo dos anos, o carragenano apresenta características que o tornam muito apelativo no contexto de aplicações médicas e no sector alimentar:

- Anticoagulantes e antitrombóticas: Estas características devem-se provavelmente ao teor de sulfato presente no carragenano [24];
- Antivirais: O carragenano inibe seletivamente e bloqueia a transmissão de vários vírus como o vírus da imunodeficiência humana (HIV), o Herpesvírus Humano simples (HSV), o Citomegalovírus humano (HCMV), bem como outros vírus sexualmente transmissíveis [25] [26] [27] [28] [29] [30];
- Antitumorais: O carragenano demonstra ter atividade antiproliferativa em linhas celulares de cancro, inibindo também o crescimento tumoral em ratos e apresentando atividade antimetastática [31] [32];
- Antioxidante: Estudos demonstram que o poder antioxidante está relacionado com o teor de grupos sulfato presentes no carragenano [33].

O carragenano pode também reduzir os níveis de colesterol e outros lípidos [34] [20].

A toxicidade do carragenano depende do seu peso molecular, existindo dois tipos de carragenano: o de baixo peso molecular e o de alto peso molecular. O carragenano que tem peso molecular médio entre 10 a 20 kDa é considerado de baixo peso molecular e é produzido sob condições severas, em meio ácido e altas temperaturas [35] [18] [14]. A Food and Drug Administration (FDA) definiu que o carragenano comercial não poderia ter um peso molecular inferior a 100 kDa, uma vez que abaixo deste valor o carragenano é considerado não seguro [18]. Estudos realizados em ratos mostram que maioritariamente o carragenano é totalmente absorvido pelo organismo não se encontrando vestígios presentes no fígado nem nos intestinos. O carragenano é parcialmente degradado, sendo que a maior parte da degradação ocorre no estômago [18].

1.5. Aplicações do Carragenano

Os polímeros naturais são considerados como não tóxicos, seguros, inertes, biodegradáveis, biocompatíveis, “amigos do ambiente” (*ecofriendly*), além de possuírem baixo custo e de se encontrarem disponíveis na natureza [1] [2]. De entre os polímeros naturais, existem polissacarídeos que constituem biopolímeros adequados à aplicação na indústria farmacêutica e alimentar, sendo o carragenano um polissacarídeo com essa capacidade. Devido às diferentes propriedades de cada tipo de carragenano, como por exemplo a alta viscosidade, a capacidade de formar géis e o facto de ser não tóxico, este polissacarídeo torna-se versátil em diversas aplicações tanto na indústria alimentar como na farmacêutica [36] [37]. Para além da utilização nestas indústrias, o carragenano pode estar presente em espumas de combate a incêndios, graxa para sapatos e géis ambientadores [17].

1.5.1. Indústria Alimentar

Produtos lácteos, sobremesas, fórmula para lactantes, bebidas, carnes processadas, condimentos e comida enlatada para animais de estimação, são alguns dos exemplos de produtos onde o carragenano é utilizado como aditivo alimentar sem valor nutritivo, com a designação de E407 [38] [19] [18] [20]. O carragenano atua como agente transportador, emulsionante, humidificante, gelificante, espessante, estabilizador e como agente de granulação e de vitrificação. [39] Pode também melhorar a aparência, a textura e o sabor dos alimentos. Este polissacarídeo pode ainda interagir com outras substâncias presentes nos alimentos, como por exemplo proteínas (κ -caseína), galactomananos e amido, para melhorar as suas funções [40] [20].

1.5.2. Indústria Farmacêutica

A utilização de polímeros naturais na indústria farmacêutica tem vindo a captar maior interesse por parte dos investigadores, embora estes sejam preferíveis, os polímeros sintéticos continuam a ser os mais utilizados na indústria farmacêutica, uma vez que os processos de extração de polímeros naturais podem encarecer o produto final.

Recentemente o carragenano tem vindo a ser utilizado como excipiente, no entanto polímeros como a hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), o alginato, o quitosano, e a poli(lisina), continuam a ser alguns dos biopolímeros mais utilizados [41] [3] [4].

O carragenano é utilizado em comprimidos orais para a liberação controlada de fármacos sob a forma de uma matriz única [37] [4], onde foram relatados testes promissores utilizando uma matriz de κ -car para a impregnação do monoidrato de teofilina [42] ou sob a forma de uma matriz de uma mistura de polímeros. Quando o carragenano é utilizado como matriz única na liberação controlada de fármacos, por vezes é difícil obter um modelo de ordem zero para a liberação (modelo desejado) e independente do pH, mas ao ser misturado com outros polímeros como é o caso do quitosano os perfis de liberação são melhorados independentemente do pH do meio de dissolução [4] [43].

Este polissacarídeo pode ser usado também como excipiente para prolongar a liberação de fármacos básicos. Devido à presença dos grupos sulfato, o carragenano está carregado negativamente e por isso tem uma alta capacidade de reagir com outras substâncias que sejam carregadas positivamente, sendo que esta capacidade pode ser bastante importante na cinética da liberação controlada de fármacos [44]. Estudos demonstram que o carragenano ao interagir com alguns fármacos básicos, como o sulfato salbutamol, a liberação inicial do fármaco é controlada independentemente do pH do meio de dissolução, devido à interação iônica entre o carragenano e o fármaco, fazendo com que a liberação do fármaco seja constante e mais prolongada [45] [46].

O carragenano é utilizado em sistemas de liberação de fármacos constituídos por micro/nanopartículas para produzir microcápsulas [4] [47], microesferas [4] [48], pérolas [4] [49], e nanopartículas [4] apresentando resultados promissores. Este polímero pode ainda ser utilizado como estabilizador de micro/nanopartículas [4] [50] e como agente gelificante [4] [51] [52].

O κ -car é utilizado na produção de tetraciclina e clorotetraciclina, [53] de antibióticos semi-sintéticos, [17] [54] de ácido d-aspartico [17] e na limpeza de efluentes industriais (remoção de azoto, [55] degradação de morfolina, de 4-clorofenol e de 2,4,6-triclorofenol) [17] e como suporte de imobilização. Foram realizados estudos utilizando também κ -car como suporte e imobilização para a degradação de pesticidas em solos contaminados [56].

Pastas dentífricas, cremes cosméticos e shampoo são também produtos que podem conter carragenano [17].

1.6. Sistemas de Liberação de Fármacos

Sistemas de liberação controlada (SLC) de fármacos é a denominação dada à tecnologia empregada para otimizar a liberação do fármaco e têm como finalidade conduzir esse mesmo fármaco até um determinado local de ação, de modo a que a sua resposta terapêutica seja melhorada, e os efeitos adversos minimizados [8] [9].

Os compostos bioativos administrados com a função terapêutica, desde moléculas de baixo peso molecular a proteínas e a material genético, são denominados por fármacos [57]. Quando os fármacos são administrados vão encontrar barreiras naturais de defesa, impostas pelo organismo e por isso apenas uma pequena parte chegará ao local de ação, [58] pois a maior parte é metabolizada ou excretada antes de atingir o local de ação ou distribuída por outros tecidos [57]. Estas barreiras podem ser ultrapassadas, modificando e protegendo o fármaco e podem ser classificadas como:

- Fisiológicas: A mucosa intestinal que protege o corpo de várias moléculas;
- Bioquímicas: Degradação enzimática;
- Químicas: As interações entre o fármaco e o meio biológico, dependendo das propriedades e estrutura do fármaco [59] [58].

O fármaco ao ser administrado tem também de manter uma concentração ao nível terapêutico por um determinado período [58]. Existem várias formas de liberação de fármacos, a convencional (liberação imediata) e a modificada (liberação não imediata) [60].

Na liberação convencional o fármaco não se apresenta com uma concentração constante no organismo e pode ser administrado: numa única dose levando muitas vezes à ineficácia terapêutica e ao surgimento de efeitos adversos ou em doses múltiplas exigindo ao paciente a toma da dosagem correta várias vezes para que a concentração do fármaco no organismo se mantenha ao nível terapêutico durante o tratamento [58].

Na liberação não imediata que pode ser retardada, prolongada ou controlada evita-se que o paciente tenha de tomar a dosagem corretamente e várias vezes.

Na liberação retardada uma única dose contém várias doses, evitando que o paciente tenha de tomar múltiplas doses na altura certa, na liberação prolongada o fármaco é libertado durante mais tempo diminuindo a velocidade a que este é libertado, evitando a administração de excesso de fármaco e na liberação controlada a concentração do fármaco é mantida constante e para isso a velocidade de consumo do fármaco tem de ser igual à velocidade de liberação, durante o tratamento [58] [61].

Contudo, a liberação não imediata apresenta desvantagens: ser dispendiosa a nível económico e se por acaso houver reacções alérgicas ou efeitos secundários não é possível parar imediatamente a sua ação terapêutica [58] [59].

A Figura 1.3 mostra a diferença no comportamento da concentração do fármaco no organismo entre a liberação convencional e a liberação modificada (controlada).

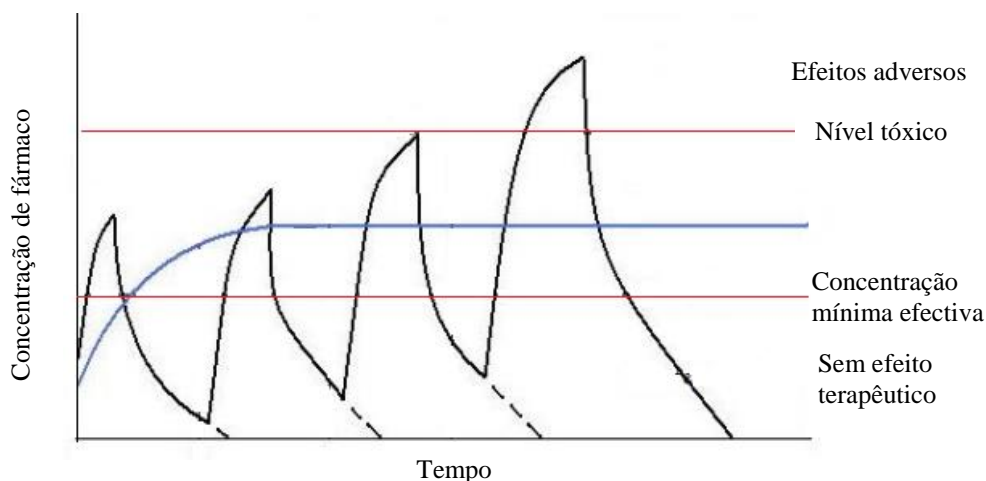


Figura 1.3 - Concentração do fármaco em função do tempo para a liberação convencional (preta) e para a liberação controlada (azul) (adaptado de [60]).

Devido às suas propriedades, versatilidade e multiplicidade, os polímeros (naturais e sintéticos) são os materiais mais investigados para aplicação em SLC, embora materiais inorgânicos [62] e lipídicos [63] possam também ser utilizados. Os polímeros utilizados em SLC e os seus produtos de degradação têm de ser biocompatíveis nos tecidos alvo, biodegradáveis e não serem tóxicos, sendo necessário ter em conta também as propriedades hidrofílicas/hidrofóbicas [57]. Os polímeros sintéticos exibem uma elevada estabilidade química e é possível manipular e adaptar a sua composição e estrutura de maneira a adequarem-se mais à aplicação a que se destinam, no entanto podem não ser biocompatíveis o que acaba por não favorecer a sua aplicação no ramo da farmacêutica [64]. Colagénio, quitosano, alginato, agarose e carragenano são alguns dos polímeros naturais e seus derivados utilizados em SLC, polietilenoglicol (não biodegradável) e poli(ácido láctico) (biodegradável) são alguns dos polímeros sintéticos também utilizados [57]. Devido à baixa ou mesmo inexistente toxicidade, baixa imunogenicidade e consequentemente elevada biocompatibilidade os polímeros naturais são os que mais se adequam para a aplicação em SLC [64].

Numa matriz polimérica, a quantidade fármaco que se consegue impregnar, depende principalmente da estrutura química da matriz, do tamanho dos poros e a da área superficial desta [65]. As propriedades das matrizes podem ser alteradas por exemplo por reticulação e funcionalização ou outro tipo de modificação do polímero, de modo a melhorar a liberação [66] [67] [68] [41].

1.6.1. Modelos Cinéticos

Em seguida serão descritos alguns dos vários modelos cinéticos que descrevem a liberação de fármaco ao longo do tempo [69] [70] [71].

Modelo de ordem zero

Um modelo de liberação controlada seria ideal se seguisse este tipo de cinética, não dependeria da quantidade de fármaco impregnado e a concentração do fármaco no organismo manter-se-ia constante durante o tempo a que a liberação acontece. Este modelo é utilizado nas formas de liberação de fármacos que não se degradam (assume-se que a área não sofre alterações e que as condições de equilíbrio não são atingidas) e que o libertam lentamente. A equação matemática que descreve este modelo é a seguinte:

$$Q_t = Q_0 + K_0 t$$

Onde Q_t é a quantidade de fármaco libertado no tempo t , Q_0 é a quantidade fármaco inicial presente em solução e K_0 é a constante de liberação de ordem zero.

Modelo de primeira ordem

Contrariamente ao modelo anterior, nesta cinética a velocidade de liberação depende da quantidade de fármaco presente e a equação que define este modelo é dada pela expressão:

$$\ln Q_t = \ln Q_0 + K_1 t$$

Onde Q_t é a quantidade de fármaco libertada no momento t , Q_0 é a quantidade de fármaco inicial em solução e K_1 é a constante de liberação de primeira ordem.

Modelo de Higuchi (cinética de meia ordem)

Os modelos desenvolvidos por Higuchi descrevem a liberação de fármacos solúveis ou pouco solúveis em água impregnados em matrizes sólidas ou semi-sólidas

Caracteriza-se por um processo de difusão descrito pela Lei de Fick, ou seja, a liberação depende da raiz quadrada do tempo e a equação que descreve este tipo de cinética é a seguinte:

$$Q_t = K_H t^{1/2}$$

Onde Q_t é a quantidade de fármaco libertada no tempo t , K_H é a constante para a liberação de Higuchi.

Modelo de Korsmeyer-Peppas [72],[73],[74]

O modelo de K. Peppas é normalmente utilizado em casos que o mecanismo de liberação não é bem conhecido ou quando se encontram envolvidos mais do que um tipo de liberação. Descreve a liberação do fármaco exponencialmente ao longo do tempo e a expressão cinética é:

$$\frac{Q_t}{Q_\infty} = K_K t^n$$

Onde Q_t é a quantidade de fármaco libertada no tempo t , Q_∞ é a quantidade total de fármaco e K_K é a constante de liberação de Korsmeyer e n é um parâmetro empírico que caracteriza o mecanismo de liberação. Aplica-se apenas o modelo aos primeiros 60% dos dados de liberação.

Na Tabela 6.8 no Anexo 6.12, podem ser encontrados os vários mecanismos associados ao expoente n (para as diferentes geometrias), que podem ser difusão Fickiana, Transporte anômalo, transporte Caso II e transporte Super Caso II. A difusão Fickiana acontece quando ocorre difusão molecular do fármaco em virtude de um gradiente químico e é descrito por um único parâmetro, o coeficiente de difusão. O transporte caso II está associado ao stress e estado de transição em polímeros hidrofílicos vítreos que incham em água ou fluidos biológicos, inclui também a erosão e destruição da rede polimérica, sendo também descrito por um único parâmetro, uma constante de relaxamento característica. O comportamento do transporte anômalo é delimitado pela difusão de Fick e pelo transporte Caso II. No caso do transporte anômalo podem ocorrer os dois mecanismos de transporte ao mesmo tempo (difusão Fickiana e o transporte caso II), assim sendo para descrever o mecanismo de transporte anômalo são necessários dois ou mais parâmetros, para descrever a difusão e os fenómenos de relaxamento polimérico. O transporte Super Caso II, caracteriza-se por uma liberação controlada pela relaxação macromolecular das cadeias de polímero [69] [70] [71] [72] [73] [74].

Modelo de Hixson-Crowell

O modelo é aplicado a formas farmacêuticas onde a dissolução acontece em planos paralelos à superfície do fármaco, por exemplo comprimidos, assumindo que a geometria do comprimido não se altera e que as suas dimensões diminuem proporcionalmente, ao longo do tempo. A equação cinética que descreve este modelo é:

$$Q_0^{1/3} - Q_t^{1/3} = K_s t$$

Onde Q_0 é a quantidade inicial de fármaco na cápsula, Q_t é a quantidade de fármaco libertado no tempo t , e K_s é a constante que relaciona a área e o volume da partícula.

1.7. Hidrogéis e Aerogéis de Polissacarídeos.

1.7.1. Hidrogéis

Devido às propriedades únicas, como a porosidade e a biocompatibilidade, géis de polímeros naturais hidrofílicos (polímeros de base proteica e vários polissacarídeos) têm sido aplicados no desenvolvimento de hidrogéis para aplicações em SLC de fármacos [75] [57]. Os hidrogéis são polímeros hidrofílicos, com cadeias mais ou menos reticuladas, e com a capacidade de absorver e reter uma grande quantidade de água sem se dissolver [76] [77]. A presença de grupos funcionais hidrofílicos na estrutura dos hidrogéis, como por exemplo grupos -OH, -SO₃H, -CONH₂, -COOH, influencia a quantidade de água absorvida [78]. Hidrogéis provenientes de polímeros naturais são preferíveis por serem biodegradáveis, não tóxicos e biocompatíveis, no entanto a variabilidade nas propriedades mecânicas, que é característica dos polímeros naturais, dificulta a reprodução industrial dos géis. A combinação de dois tipos de polímeros, sintéticos e naturais, favorece em muitas situações a sua aplicabilidade em SLC de fármacos [57] [76] [79].

Nos hidrogéis químicos as cadeias dos polímeros encontram-se ligadas por ligações covalentes e são menos suscetíveis a alterações nas condições físicas, como por exemplo pH, temperatura e aplicação de tensão, do que os hidrogéis físicos em que as cadeias se encontram ligadas por ligações iónicas, pontes de hidrogénio e interações hidrofóbicas [77]. Os géis químicos de polímeros naturais que são preparados com agentes de reticulação têm como principal problema o facto de alguns agentes de reticulação não serem biocompatíveis, pois alguns deles são considerados tóxicos [57] [80]. Alguns polissacarídeos com carácter iónico, como é o caso do carragenano, possuem a capacidade de gelificar na presença de certos tipos de iões de carga oposta (gelificação ionotrópica). Estes géis apresentam vantagens de serem produzidos em meios

totalmente aquosos de não necessitarem de agentes químico reticulantes, catalisadores, iniciadores ou outros compostos tóxicos, no entanto estes como são formados por ligações reversíveis, podem ser dissolvidos [57].

O tamanho dos poros faz com que os hidrogéis sejam ótimas matrizes para aplicação em SLC de fármaco, pois vários compostos ativos podem ser impregnados e libertados com velocidades diferentes em diferentes períodos de tempo [81].

O fármaco pode ser impregnado no gel depois da sua formação ou no decorrer desta, ou ainda após a secagem (no aerogel, como acontece neste trabalho). Na impregnação depois da formação do hidrogel, o fármaco é geralmente incorporado no hidrogel (ou aerogel) submergindo-o numa solução saturada do fármaco, onde ocorre a difusão do fármaco para o interior do hidrogel (ou aerogel) até que se atinja o equilíbrio [80] [57].

1.7.2. Aerogéis e Secagem Supercrítica

Os aerogéis são materiais com uma elevada área superficial e porosidade, o que os torna interessantes para a impregnação de compostos ativos. Estes materiais podem ser obtidos por secagem de um hidrogel através de métodos de secagem apropriados.

O processo de secagem tradicional, por exemplo a secagem ao ar, leva a formação do xerogel em que a estrutura do hidrogel não é mantida (colapso dos poros), [82] [83] outro tipo de secagem é a liofilização que levam à formação de criogeis que podem conter algumas deformações na estrutura porosa inicial do hidrogel e fissuras [65].

A secagem supercrítica supera na maior parte dos casos este tipo problemas que acontecem nos processos tradicionais, preservando a alta porosidade do hidrogel. O scCO_2 é o fluido mais apropriado para a secagem supercrítica de aerogéis à base de polissacarídeos devido ao seu ponto crítico ($31,05^\circ\text{C}$, $73,8\text{ bar}$) e por ser reconhecido como seguro [84] [83].

A temperatura usada na secagem supercrítica com o CO_2 é normalmente de 310K - 330K , o que minimiza as mudanças nas moléculas da rede polimérica do alcogel após a secagem [65].

Primeiramente existe uma alta dissolução do scCO_2 no solvente do alcogel o que leva a expansão do líquido e ao derrame do excesso de líquido (solvente) para fora da rede polimérica do alcogel. Seguidamente a quantidade de CO_2 no líquido presente nos poros do alcogel, vai aumentando com o tempo até as condições supercríticas da mistura presente nos poros seja atingida. Por fim a ausência de líquido (solvente) nos poros e a presença do fluido supercrítico nos poros, faz com que não haja tensão superficial, evitando o colapso dos poros na estrutura do

gel enquanto ocorre a eliminação do solvente [65] [85]. A secagem supercrítica pode ser feita com fluxo contínuo de scCO_2 ao longo do tempo, o que é chamada secagem supercrítica dinâmica, ou em *batches*, denominando-se secagem supercrítica estática.

Na Figura 1.4 está esquematizado o processo de formação de aerogéis de base polisacarídica.

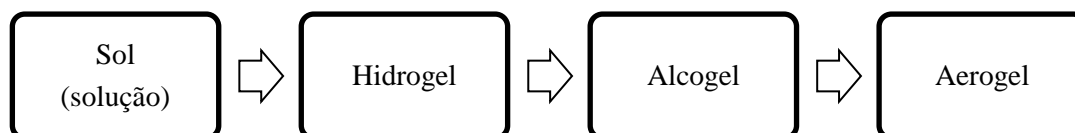


Figura 1.4 - Processo de produção de um aerogel [65].

Depois do hidrogel estar formado substitui-se a água ou o solvente utilizado na preparação do hidrogel, contida(o) nos seus poros, por um outro solvente com alta solubilidade em CO_2 , um álcool ou acetona, mas normalmente o solvente utilizado para a substituição é o etanol. É necessário fazer esta troca de solvente, devido à baixa afinidade da água para o scCO_2 . Se existir água nos poros do hidrogel, quando este é seco pode ocorrer uma mudança bastante significativa na estrutura porosa inicial [65] [86] [87] [83].

O processo de troca de solvente é realizado por imersão do hidrogel no novo solvente ou por sucessivas imersões em misturas do novo solvente com água, aumentando sucessivamente a concentração do novo solvente [88]. O solvente utilizado para a troca não pode dissolver o hidrogel, para ser aceite na produção de fármacos (biocompatível), tem de ser completamente solúvel no solvente em que o gel foi formado e tem de se ter atenção para que durante a mudança do solvente não ocorra o encolhimento do gel [65] [89].

Cada vez mais tem-se assistido a um maior interesse na utilização de aerogéis em SLC de fármacos [65].

Os aerogéis à base de polissacarídeos sendo biocompatíveis são ótimos materiais para construção de sistemas biodegradáveis de liberação controlada de fármacos, mas também para serem utilizados em cosméticos, biotecnologia e indústria alimentar [65]. Existem vários autores como por exemplo Françoise Quignard et al. [89], Kathirvel Ganesan et al. [90] e García-González et al. [65] que descrevem os aerogéis obtidos a partir de vários polissacarídeos, como o carrageano.

À semelhança do que acontece nos hidrogéis a impregnação do fármaco em aerogéis pode ser realizada de várias maneiras: antes da formação do hidrogel (co-gelificação), durante o

processo de troca de solvente por adsorção na estrutura do hidrogel, do composto ativo que foi previamente dissolvido no novo solvente (solvente de troca) e após o aerogel estar formado ou durante a formação deste [91] [92] [65].

A densidade, tamanho dos poros e área superficial dos aerogéis influenciam o comportamento da adsorção do fármaco na matriz do aerogel e a quantidade máxima que esta consegue impregnar. De forma geral a quantidade de fármaco que é possível impregnar numa matriz aumenta com a área superficial, volume dos poros e interconectividade entre os poros do aerogel [65].

1.8. Líquidos iónicos como solventes de polímeros naturais

Devido às suas propriedades, os LIs têm vindo a revelar-se uma ótima opção para dissolver e extrair vários biopolímeros e polissacarídeos.

A investigação e a utilização dos LIs em diversas áreas como a biotecnologia, a química orgânica, a engenharia química e a química farmacêutica têm vindo a ganhar cada vez mais importância, devido às suas propriedades únicas e à necessidade de se apostar em processos “verdes”, uma vez que os LIs podem ser utilizados como solventes alternativos aos solventes orgânicos que são tóxicos e voláteis [5].

Os LIs são sais orgânicos com um ponto de fusão inferior a 100°C, sendo constituídos normalmente por catiões orgânicos e por aniões orgânicos ou inorgânicos [93]. Esta sua composição permite um elevado número de combinações que se podem fazer entre catiões e aniões, dando origem a imensos LIs diferentes. Deste modo é possível criar LIs com as propriedades (físicas, químicas e térmicas) pretendidas para uma determinada aplicação, combinando o catião e anião que se melhor adequa às características pretendidas [94] [5].

O elevado interesse na utilização dos LIs deve-se às suas propriedades como a quase inexistente pressão de vapor, a elevada condutividade iónica, a elevada estabilidade térmica e química, a facilidade de dissolução de matérias orgânicos, inorgânicos e poliméricos e uma larga janela eletroquímica [93] [5].

Nas últimas décadas os LIs desenvolvidos têm sido preferencialmente constituídos por catiões orgânicos como os catiões imidazólio, fosfónio, piridínio entre outros. Quanto aos aniões, estes são escolhidos de acordo com as propriedades finais dos LIs pretendidos, como a viscosidade, estabilidade térmica e química, ponto de fusão, solubilidade, polaridade e densidade [5] [95].

Embora se tenha intensificado bastante a investigação nesta área, os LIs continuam a ser pouco utilizados a nível industrial. A utilização dos LIs na indústria farmacêutica tem proporcionado alguma discordância devido à sua toxicidade e biodegradabilidade, no entanto podem preparar-se LIs de baixa toxicidade, para isso a escolha tem de recair em catiões e aniões não tóxicos e biocompatíveis. Contudo os LIs são bastante biodegradáveis em comparação com outros excipientes normalmente usados na indústria farmacêutica e alguns dos excipientes utilizados possuem valores de toxicidade semelhantes a diversos LIs [5] [96] [97].

Os LIs apresentam uma boa afinidade para com biomoléculas, como é o caso dos polissacarídeos [98], assim sendo, estes têm sido propostos como solventes em processos de dissolução e extração de polissacarídeos, como é o caso bem conhecido da celulose [7], substituindo os solventes orgânicos, que são prejudiciais para o ambiente. Alguns destes solventes “verdes” melhoram a dissolução da celulose, que é insolúvel em água e em alguns solventes orgânicos. De um modo geral, quando um polissacarídeo, como é o caso da celulose, é dissolvido/extraído num LI, as pontes de hidrogénio do polímero são quebradas e novas podem ser estabelecidas, permitindo uma reorganização do polímero. Apesar de os mecanismos de dissolução da celulose ainda não serem completamente conhecidos, acredita-se que tanto o catião como o anião participam no processo de dissolução, através de interações específicas (pontes de hidrogénio) ou não-específicas cujo mecanismo ainda não está inteiramente especificado. Os líquidos iónicos são particularmente eficazes em processos de dissolução devido ao seu elevado carácter iónico [99] [100].

Polissacarídeos como: carragenano, alginato e quitosano [89]; goma xantana [101]; celulose [102] são capazes de formar géis por dissolução em LIs.

Os polissacarídeos provenientes de algas, têm muitas das vezes baixa solubilidade em solventes convencionais, o que restringe a eficiência da extração. Existem atualmente poucos estudos que relatem a extração destes polissacarídeos utilizando LIs, no entanto vários autores já provaram que é possível extrair polímeros de algas, como é o caso da agarose [6].

Segundo Arun Kumar Das et al. ainda não foram reportadas tentativas para extrair κ -car diretamente de algas usando LIs, no entanto a preparação de géis por dissolução em LIs com vários tipos de carragenano já foi efetuada [103].

1.9. Técnicas de Caracterização

Existem vários métodos que são normalmente usados na caracterização de materiais/matriz poliméricas. De seguida apresenta-se uma breve descrição de alguns deles aplicados neste trabalho.

1.9.1. Espectroscopia de FTIR

A espectroscopia de infravermelho (IR) analisa a vibração dos átomos de uma molécula quando esta é sujeita a uma radiação, baseando-se no facto das ligações químicas apresentarem frequências específicas às quais vibram, a níveis bem definidos de energia [104] [105]. O espectro IR é obtido fazendo passar através da amostra um feixe de luz IR medindo-se a quantidade de energia absorvida pela amostra a cada comprimento de onda [104].

Espectroscopia de IR com Transformada de Fourier (FTIR) é o procedimento mais usado de espectroscopia de infravermelho [105].

FTIR associado a Reflectância Total Atenuada FTIR-ATR foi usada neste trabalho. A associação do FTIR a esta técnica de amostragem permite analisar a amostra no estado sólido ou líquido sem necessidade de preparação prévia. Esta técnica é bastante usada na caracterização de polímeros e requer apenas um contacto próximo entre a amostra e o cristal ATR por onde passa o feixe de IR [104].

1.9.2. Análise Termogravimétrica (TGA)

Este método de caracterização é uma técnica de análise térmica (técnica destrutiva) que mede a variação da massa da amostra em função da temperatura e/ou tempo, enquanto a amostra é submetida a um ambiente de temperatura e atmosfera controlada. A TGA proporciona conhecer as alterações que o aquecimento pode provocar na massa da amostra, possibilitando conhecer a estabilidade térmica da amostra, a sua composição e estabilidade dos compostos intermediários e sobre a composição do resíduo.

As curvas termogravimétricas podem e devem ser derivadas (primeira ordem) dando origem à termogravimetria derivada (DTG), fornecendo informação sobre a primeira derivada da variação da massa em função do tempo ou da temperatura. Com a DTG representada no mesmo

gráfico que as curvas de TGA é possível identificar em quantas etapas ocorre a decomposição térmica ou a degradação termo-oxidativa de uma amostra, sendo que o pico mínimo representa a perda de massa e o pico máximo a agregação de massa.

A análise termogravimétrica é uma técnica de caracterização bastante utilizada especialmente em polímeros.

O equipamento utilizado neste método é constituído basicamente por uma microbalança de precisão, um forno que opera numa faixa específica de temperatura entre -170°C a 2800°C, cadinhos, termopares e um sistema de fluxo de gás (purga) [106] [107] [108] [109] [110].

1.9.3. Calorimetria Diferencial de Varrimento (DSC)

A DSC é empregada para calcular a diferença de energia entre uma amostra e um material de referência à medida que a amostra é submetida a ciclos de arrefecimento e aquecimento, sob uma atmosfera controlada. Esta técnica é normalmente usada para a determinação de entalpias de fusão e de cristalização, da temperatura de fusão e cristalização e da temperatura de transição vítrea.

Este método é usado em conjunto com a TGA, sendo que ambas as técnicas usam a mudança da temperatura para retirar informação sobre a amostra.

Ao contrário da TGA, a calorimetria diferencial de varrimento permite identificar mudanças de fase sem que haja variação de massa.

Existem transições de primeira ordem que representam variações de entalpia, originando picos. Estas podem ser endotérmicas, como por exemplo fusão, reações de redução ou exotérmicas, cristalização, oxidação e reações de decomposição. Também existe transições de segunda ordem que indicam variação de capacidade calorífica, sem variação de entalpia, não gerando picos como as transições anteriores, mas sim curvas em S, sendo a transição vítrea um exemplo das transições de segunda ordem [107] [108] [109] [111] [112].

1.9.4. Porosimetria por Adsorção de Azoto (ASAP)

Esta técnica permite através de isotérmicas de adsorção/dessorção determinar a distribuição do tamanho dos poros, bem como o seu diâmetro, o volume, densidade do sólido e determinar a área superficial, tratando-se de um método não destrutivo [113] [114].

O tubo que contém a amostra a analisar, é mantido dentro de um recipiente isolado termicamente contendo azoto líquido durante o decorrer do ensaio [115].

1.9.5. Microscopia Eletrónica de Varrimento (SEM)

Este método é utilizado para conhecer a morfologia, a textura e confirmar a composição química elementar dos compostos (se for equipado com detetores de energia dispersiva (EDS)) com a obtenção de imagens das suas superfícies com uma gama de ampliação de 10x até 18000x e com uma profundidade de campo de 30µm.

O SEM permite analisar a microestrutura, identificar impurezas e defeitos e realizar estudos de corrosão, fratura e adesão.

A microscopia eletrónica de varrimento utiliza um feixe de eletrões em vez de luz como na microscopia ótica, o que faz com que seja necessário a utilização de vácuo e a estabilidade física e química nas condições de interação com o feixe de eletrões [116] [117].

2. Materiais e Métodos

A escolha dos LIs a utilizar na dissolução do κ -car recaiu sobre dois LIs derivados do catião metilimidazólio, nomeadamente o cloreto de 1-butil-3-metilimidazólio e o acetato de 1-butil-3-metilimidazólio, onde se pretendia averiguar a influência do anião na estrutura e propriedades físicas dos géis formados. Os LIs derivados deste tipo de catião com vários aniões diferentes, ao longo dos anos têm sido usados para dissolver vários polissacarídeos, demonstrando uma boa afinidade deste tipo de LIs para com os polissacarídeos [98] [7] [118] [119] [120]. Foi ainda tentada a dissolução no maleato de colina um LI biocompatível e no cloreto de tetrakis(hidroximetil)fosfónio, um LI que foi usado como agente de reticulação em hidrogéis à base de proteínas. [121] Assim sendo foi pertinente avaliar a capacidade de extração do carragenano, por parte dos mesmos líquidos iónicos.

No decorrer deste trabalho, como descrito acima, foram utilizados quatro LIs diferentes, para a formação de géis de κ -car e para a extração do carragenano e foram eles o cloreto de 1-butil-3-metilimidazólio [bmim][Cl] (Figura 2.1 (b)), o maleato de colina [Ch][HMal] (Figura 2.1 (d)) (fornecidos por Solchemar, uma start-up da FCT/UNL), o acetato de 1-butil-3-metilimidazólio [bmim][Ac] (Figura 2.1 (a)) (sintetizado a partir do [bmim][Cl] conforme descrito em Anexo 6.2) e o cloreto de tetrakis(hidroximetil)fosfónio 80% em água [THMP][Cl] (Figura 2.1 (c)) (fornecido pela Sigma-Aldrich).

Na Tabela 2.1 encontram-se descritas algumas propriedades dos LIs utilizados.

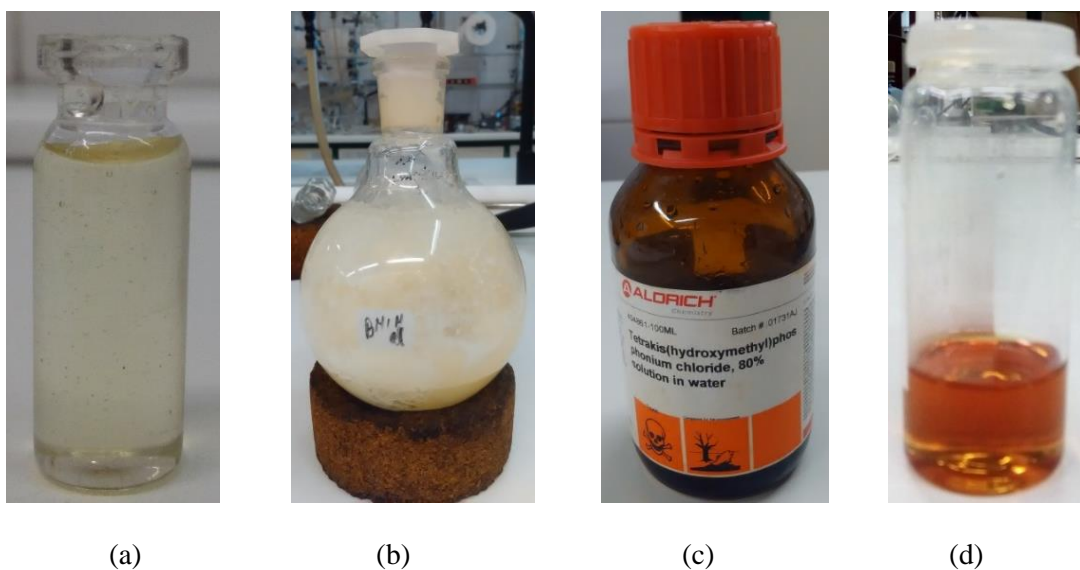
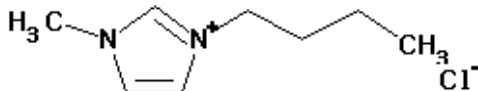
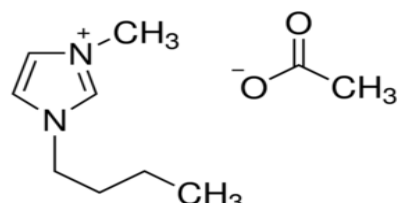
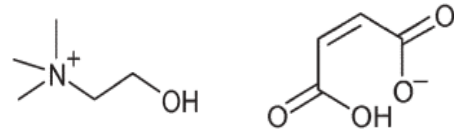
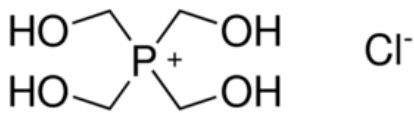


Figura 2.1 - LIs utilizados (a) [bmim][Ac], (b) [bmim][Cl], (c) [THMP][Cl], (d) [Ch][HMal]

Tabela 2.1 - Características dos LIs utilizados.

Cloreto de 1-butil-3-metilimidazólio [bmim][Cl] C ₈ H ₁₅ ClN ₂ [95] [122] [123]			
Estado físico	Cor	Odor	
Sólido	Branco/amarelo claro	Inodoro	
Massa molar (g/mol)	Densidade a 25°C (g/cm ³)	pH	
174,68	1,08	Sem informação	
Hidrossolubilidade		Ponto de fusão °C	
Solúvel a 20°C		65-69	
Acetato de 1-butil-3-metilimidazólio [bmim][Ac] C ₁₀ H ₁₈ N ₂ O ₂ [124] [125]			
Estado físico	Cor	Odor	
Líquido viscoso	Amarelo claro	Característico	
Massa molar (g/mol)	Densidade a 25°C (g/cm ³)	pH	
198,27	1,055	Sem informação	
Hidrossolubilidade		Ponto de fusão °C	
Solúvel		<-20°C	
Maleato de colina [Ch][HMal] C ₉ H ₁₇ NO ₅ [126] [127] [128]			
Estado físico	Cor	Odor	
Líquido viscoso	Acastanho	Forte	
Massa molar (g/mol)	Densidade a 25°C (g/cm ³)	pH	
219,24	1,38	Sem informação	
Hidrossolubilidade		Ponto de fusão °C	
Solúvel		Líquido à temperatura ambiente	
Cloreto de tetrakis(hidroximetil)fosfônio 80% em água [THMP][Cl] (HOCH ₂) ₄ PCl [129] [130]			
Estado físico	Cor	Odor	
Líquido viscoso	Incolor	Característico	
Massa molar (g/mol)	Densidade a 25°C (g/cm ³)	pH	
190,56	1,341	3,5-4,5	
Hidrossolubilidade		Ponto de fusão °C	
Solúvel		Líquido à temperatura ambiente	

2.1. Extração do Carragenano

Para a extração do carragenano a partir da alga musgo irlandês, realizaram-se extrações pelo processo tradicional em meio básico e em H₂O e extrações com aditivção de LIs. As extrações foram baseadas no artigo de Arun Kumar Das et al. [103].

2.1.1. Extração do Carragenano pelo Processo Tradicional

Materiais

- Solução de NaOH 0,5%;
- Solução de Ca(OH)₂ 0,5%;
- H₂O desionizada;
- Isopropanol;
- Alga alimentar da espécie *Chondrus crispus* (musgo irlandês) da Tok de Mar (ALGApplus) (Figura 2.2).



Figura 2.2 - Alga utilizada para a extracção (*Chondrus crispus*).

Métodos

A alga (Anexo 6.3 – Figura 6.2 – 1) foi cortada em pedaços pequenos e seguidamente o solvente de extracção (40 mL) foi adicionado a 2g de alga. A alga ficou imersa no solvente durante 2 horas (Anexo 6.3 – Figura 6.2 – 2), ao fim desse tempo a alga foi filtrada (Anexo 6.3 – Figura 6.2 – 3) e inserida num tubo de polietileno juntamente com H₂O desionizada (40 mL). Em seguida o tubo foi tapado e colocado no interior da autoclave. A autoclave foi colocada no forno (T=100°C) onde permaneceram durante 1 hora e 30 minutos (Anexo 6.3 – Figura 6.2 – 4).

Ao fim desse tempo a autoclave foi retirada do forno e o conteúdo do tubo (Anexo 6.3 – Figura 6.2 – 5) centrifugado duas vezes durante, 20 minutos cada e a cerca de 3000 rotações por minutos (Anexo 6.3 – Figura 6.2 – 6). Em cada centrifugação o sobrenadante (onde se encontra dissolvido o carragenano) (Anexo 6.3 – Figura 6.2 – 7 e 8) foi retirado para um balão de fundo redondo. Procedeu-se ainda à filtração a vácuo do precipitado de forma a conseguir retirar o máximo da solução onde carragenano se encontrava (Anexo 6.3 – Figura 6.2 – 9).

Seguidamente, ao conteúdo presente no balão e sob agitação foi adicionado isopropanol de modo a precipitar o carragenano propriamente dito (Anexo 6.3 – Figura 6.2 – 10). A quantidade que se adicionou de álcool foi cerca de o dobro da quantidade de solvente que se usou para realizar a extracção.

Depois da precipitação do carragenano o álcool foi a evaporar num evaporador rotativo, obtendo-se o carragenano maioritariamente livre de solvente. A fim de secar a massa de polímero extraído o balão foi colocado numa estufa a vácuo a 80°C até que se obteve o carragenano completamente seco (cerca de 2 dias) (Anexo 6.3 – Figura 6.2 – 11). Ao fim desse período foi determinada a massa de carragenano de modo a calcular-se a percentagem de extracção. Nova secagem por período de tempo inferior (12h) foi efetuada a fim de confirmar a massa determinada.

2.1.2. Extracção do Carragenano com LIs

Materiais

- LIs: acetato de 1-butil-3-metilimidazólio [bmim][Ac], maleato de colina [Ch][HMal] e cloreto de tetrakis(hidroximetil)fosfónio 80% em água [THMP][Cl];
- H₂O desionizada;
- Isopropanol;
- Alga alimentar da espécie *Chondrus crispus* (musgo irlandês) da Tok de Mar (ALGApplus) (Figura 2.2).

Métodos

Para a extracção do carragenano com os LIs, procedeu-se de modo similar ao descrito na extracção dita tradicional.

O solvente de extracção (20 mL) constituído por H₂O aditivada com diferentes % de LI foi adicionado aos pedaços de algas secas (1g). A alga foi deixada a hidratar por duas horas, posteriormente foi filtrada e colocada na autoclave apenas com H₂O desionizada (20 mL).

O polímero foi precipitado por adição de isopropanol e, a fim de eliminar o LI que possa permanecer na massa de polímero extraída, esta foi submetida a sucessivas lavagens com uma mistura água/etanol (50% v/v). Realizou-se inicialmente duas a três lavagens com uma mistura de água e etanol 50% e depois as lavagens passaram a ser só de etanol. As lavagens foram realizadas durante vários dias até que a mistura presente no balão apresentasse uma cor mais límpida.

Realizou-se também uma extracção fora do autoclave durante uma noite com 1%, 10% e 100% de LI [bmim][Ac] e a alga utilizada foi moída finamente com recurso ao azoto líquido.

A extracção foi feita num balão de fundo redondo que se encontrava num banho de óleo a 85°C. Depois da extracção a solução foi filtrada de modo a separar a alga da solução que continha o carragenano e, posteriormente procedeu-se às sucessivas lavagens como acima descrito.

2.2. Preparação de Géis de Carragenano

Durante a realização deste trabalho foram preparados géis de carragenano com adição sais e LIs.

2.2.1. Preparação de Géis de κ -car com a Adição de Sais

De acordo com o descrito anteriormente em 1.7, o κ -car é um polímero natural com carácter iónico com a capacidade de gelificar na presença de certos tipos de iões de carga oposta (gelificação ionotrópica). Neste caso, o catião potássio tem um importante papel na transição da estrutura de hélice aberta e aleatória para uma estrutura de dupla hélice bem organizada, ou seja, na formação do gel de κ -car (Figura 2.3), mas o anião também apresenta um papel significativo na interação entre a cadeia polimérica e o contra-íão e pode atuar como estabilizador da hélice. De acordo com o descrito por Kathirvel Ganesan et al. [90] uma maior estabilidade da hélice é conseguida seguindo a sequência:

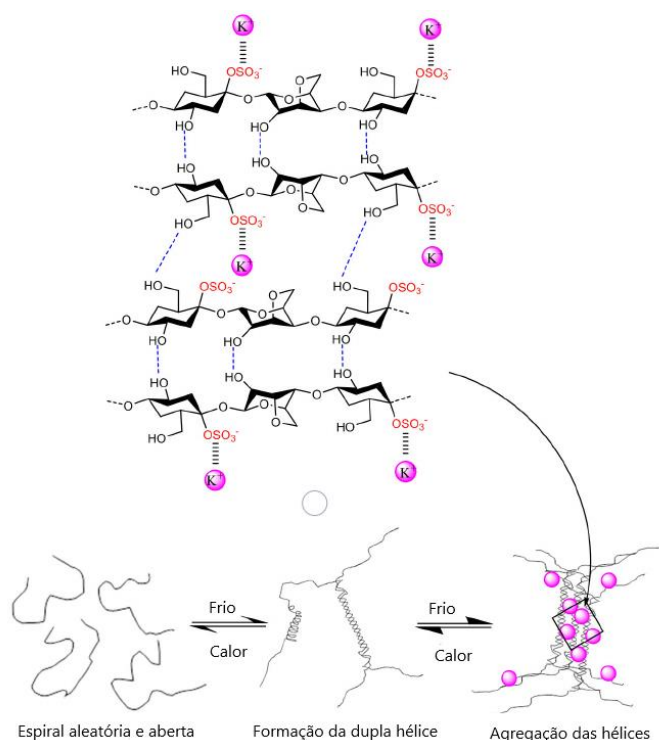


Figura 2.3 - Mecanismo de gelificação do κ -car na presença de iões de potássio [131].

A maior estabilidade da hélice que é conseguida por se utilizar um catião e anião específico, reflete-se numa menor redução do volume, menor encolhimento do gel após secagem com vantagens para aplicação destas matrizes no armazenamento e distribuição de fármacos. Esta sequência de estabilidade, poderá ser devida à eletronegatividade, quanto menor esta for, menor é a destabilização que provoca na carga negativa do κ -car, facilitando a formação da dupla hélice.

Neste trabalho foram produzidos géis de 2% (m/v) de κ -car em água com a adição dos sais, KCl e KSCN com base no procedimento descrito por Kathirvel Ganesan et al. [90].

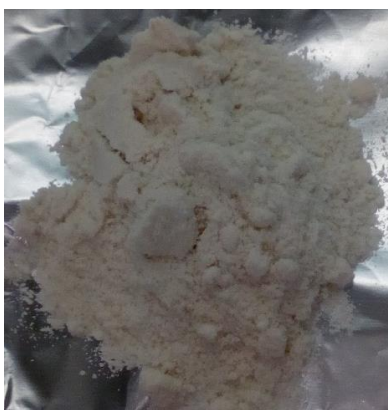


Figura 2.4 - κ -car utilizado na preparação dos géis.

Materiais

- Soluções de 0,6M, 1,2 M e 2,4M de KCl e KSCN;
- H₂O desionizada;
- κ -car alimentar refinado da Cargill (RPM 87 R1) (Figura 2.3)

Métodos

0,4 g de κ -car foram adicionados a 20ml de H₂O desionizada e aquecidos a 85°C num banho de óleo. A solução foi mantida sob agitação até total homogeneização (cerca de 30 min).

À mesma temperatura é colocado outro copo com a solução de 0,6M (ou 1,2M ou 2,4M) de KCl ou KSCN, dependendo do gel que se irá produzir, de modo a que quando se adicionar a solução de sal esteja à mesma temperatura que a solução de κ -car, evitando uma perturbação no sistema. A montagem referente a este processo encontra-se representado na Figura 2.4. Após total dissolução (solução de polímero transparente), a agitação foi diminuída, e foram adicionados 2,86 ml da solução salina. Depois da adição concluída 1 mL da solução foi retirada com auxílio de uma pipeta, para moldes cilíndricos. Os moldes contendo a solução de polímero foram tapados com parafilme e deixados em repouso durante 24h de forma assegurar a solidificação e maturação

do gel. Ao fim desse tempo os géis foram retirados do molde e colocados numa mistura etanol-água. Fez-se diariamente uma mudança de solvente, até um total de quatro. Na mistura etanol-água, a concentração de etanol foi gradualmente aumentada durante as mudanças de solvente (30%, 50%, 70% e 100% etanol) de forma a obter o alcogel.



Figura 2.5 - Montagem para a realização de géis de κ -car com adição de sais.

2.2.2. Preparação de Géis de κ -car por Dissolução em LIs

Materiais

- LIs: cloreto de 1-butil-3-metilimidazólio [bmim][Cl], maleato de colina [Ch][HMal], acetato de 1-butil-3-metilimidazólio [bmim][Ac] e cloreto de tetrakis(hidroximetil)fosfónio 80% em água [THMP][Cl];
- H₂O desionizada.

Métodos

Foi pesado 1g de LI para um frasco cilíndrico ao qual foi adicionada a massa de κ -car para as diferentes percentagens de polímero no gel (2% (m/m) - 0,02g e 10% (m/m) - 0,1g). Os LIs podem possuir uma maior capacidade de dissolução para o polímero em questão pelo que, a composição de 10% (não solúvel em água) foi aqui tentada com o intuito de comparar as propriedades do gel resultante com aquelas apresentadas pelos géis obtidos por dissolução de 2% (m/m) de polímero nos diferentes solventes. Os frascos foram introduzidos num banho a óleo a 85°C e com agitação durante uma noite (15h). Ao fim desse tempo os frascos com os hidrogéis foram retirados até arrefecimento e seguidamente foi-lhes adicionado uma mistura etanol-água. Procedeu-se à mudança do solvente de acordo com o descrito anteriormente na preparação de géis com os sais KCL e KSCN.

2.3. Secagem dos Géis com CO₂ Supercrítico

A secagem supercrítica dos aerogéis foi efetuada num sistema existente no LAQV-REQUIMTE pela Mestre Ana Inês Paninho e sob a supervisão da Dra. Ana Nunes. O tipo de secagem supercrítica utilizada foi a secagem dinâmica representada na Figura 2.5.

Materiais

- Alcogéis de 2% e 10% de κ -car com [bmim][Ac] e [bmim][Cl], e alcogéis de 2% de κ -car com KSCN e KCl;
- CO₂;
- Equipamento de secagem supercrítica.

Métodos [118]

O alcogel foi colocado no fundo do extrator cilíndrico de 12 cm³, com cerca de 5ml de etanol, para evitar que o solvente presente no alcogel evaporasse antes do contacto com o CO₂. O extrator foi posicionado verticalmente num banho-maria termostaticado a 40°C (313,15K). No sistema de secagem supercrítica utilizando o scCO₂, este é colocado em contacto com o alcogel no interior do extrator, graças a um compressor pneumático ligado ao seu topo e libertado na parte superior do extrator. O fluxo de scCO₂ (cerca de 3g/min) é controlado por ajuste lento de duas válvulas de altas pressões que se encontram ligadas diretamente ao sistema de vedação no topo do extrator. O fluxo é mantido constante no decorrer do processo. O processo de secagem

supercrítica foi realizado durante 4 horas a uma pressão acima do ponto crítico do CO₂, 200bar (20MPa). A corrente de saída de CO₂ do autoclave é rica em etanol. Após o fim do processo o sistema foi despressurizado e o aerogel retirado do extrator. A montagem referente ao processo de secagem supercrítica, encontra-se representado na Figura 2.5.



Figura 2.6 - Montagem para a secagem de géis com scCO₂.

2.4. Impregnação e Testes de Libertação de Fármacos

2.4.1. Impregnação dos Fármacos nas Amostras de Aerogel

Materiais

- Soluções saturada de teofilina em etanol e tetraciclina em etanol: teofilina da Sigma-Aldrich, ($\geq 99\%$), cloridrato de tetraciclina cedida por (Sigma-Aldrich) e etanol. O antibiótico (Cloridrato de Tetraciclina, $\geq 95\%$) foi adquirido na Fisher Scientific, e o etanol (95%) foi adquirido na empresa Aga.
- Aerogéis ([2% κ -car]:[KCl] e [2% κ -car]:[bmim][Ac])

Teofilina

Neste trabalho a teofilina foi um dos fármacos escolhidos para a impregnação em aerogéis e posterior libertação, por se tratar de um fármaco que já foi estudado por vários autores [132] [133] [134] e por ser um fármaco que tem na sua constituição átomos de azoto com afinidade com os grupos sulfato do carragenano pelo que era esperado uma maior facilidade na introdução do composto na matriz.

A teofilina [135] é uma metilxantina, semelhante com a cafeína. Caracteriza-se como um pó cristalino branco, inodoro e com um sabor amargo.

Este fármaco é utilizado para tratamentos de asma, doença pulmonar obstrutiva crónica e é um broncodilatador.

Os mecanismos de ação da teofilina não são bem conhecidos, mas estudos sugerem que a broncodilatação é devida à inibição de duas isoenzimas de fosfodiesterase (PDE III e PDE IV), sendo os efeitos profiláticos não broncodilatadores mediados pelo antagonismo de recetores de adenosina [136].

A teofilina anidra ($C_7H_8N_4O_2$) tem de peso molecular 180,16 g/mol, um ponto de fusão de 270-274°C [135], solubilidade: de 8,3mg/ml em água [137], 25mg/ml em etanol a (80°C) [138] e pKa de 8,81 [135]. A estrutura química e a teofilina utilizada neste trabalho são apresentadas na Figura 2.6.

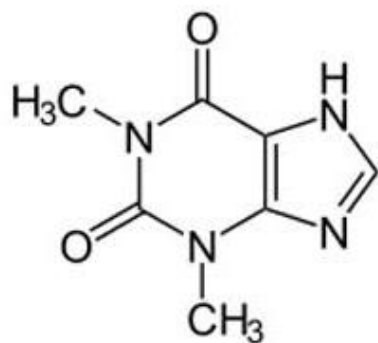


Figura 2.7 - Estrutura química da teofilina (à esquerda) [139] e teofilina em pó (à direita).

Tetraciclina

Escolheu-se utilizar a tetraciclina para impregnação e posterior libertação, por se tratar de um fármaco de maiores dimensões que a teofilina, de modo a averiguar se o seu tamanho é mais adequado às dimensões dos poros dos aerogéis utilizados como matriz de impregnação. A tetraciclina possui ainda muitos grupos OH que podem estabelecer interação com a molécula de carragenano através do estabelecimento de pontes de hidrogénio, facto que pode facilitar a sua impregnação e estabilização no interior da matriz. A libertação deste fármaco já foi estudada por vários autores, quando impregnado em celulose microbiana [140], em membranas de quitosano [141] e em membranas de colágeno aniónico [142].

A tetraciclina é um antibiótico utilizado para tratar infeções, localizadas como por exemplo, no intestino, nos órgãos genitais, nos gânglios linfáticos, na pele e tecidos moles, no trato respiratório e urinário, sendo eficaz no combate a vários tipos de bactérias. Este antibiótico é frequentemente utilizado no tratamento de doenças sexualmente transmissíveis (como a clamídia, gonorreia e sífilis) e de problemas de acne [143] [144].

A tetraciclina é um pó cristalino amarelo e inodoro, é muito solúvel em água e pouco solúvel em álcool. A exposição à luz faz com que a tetraciclina se degrade (escurece) [143].

Este antibiótico inibe a síntese proteica das bactérias, ligando-se à subunidade 30S dos ribossomas, impedindo a ligação do aminoacil-tRNA ao local A e a consequente introdução de novos aminoácidos na cadeia peptídica [143] [145] [146]. As tetraciclina atuam sobre uma vasta série de espécies de bactérias como algumas das que pertencem às bactérias gram-negativas e gram-positivas e às bactérias anaeróbias, sendo a tetraciclina ativa também contra alguns parasitas [143] [147]. A absorção da tetraciclina ocorre maioritariamente no estômago e no intestino delgado proximal. [144]

O cloridrato de tetraciclina tem peso molecular de 480,90 g/mol, o ponto de fusão é de 214°C, a 20°C é solúvel em água (17,8 mg/ml) e em etanol (7,86 mg/ml) e o pKa a 25°C é 3,3; 7,7; 9,7. [148] [149]. A estrutura química e a tetraciclina utilizada neste trabalho são apresentadas na Figura 2.7.

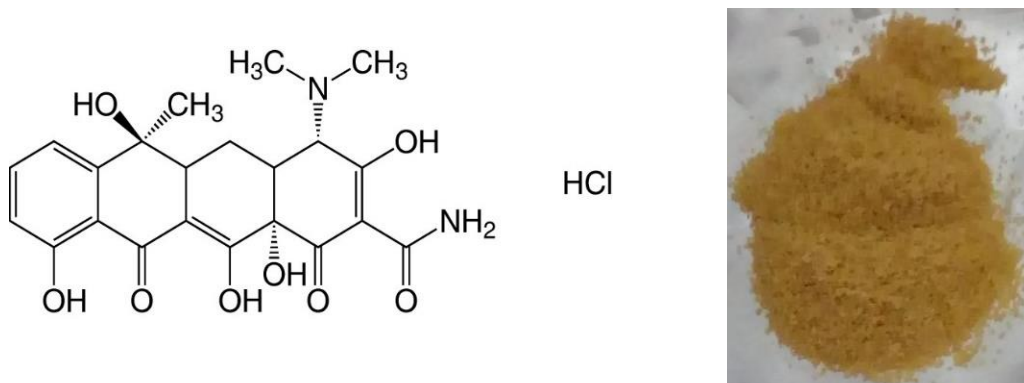


Figura 2.8 - Estrutura química da tetraciclina (à esquerda) [150] e tetraciclina em pó (à direita).

Métodos

A solução saturada de teofilina foi preparada adicionando, num balão de fundo redondo, a quantidade de teofilina e etanol necessária para criar uma solução saturada (solubilidade da teofilina em etanol é 25mg por ml de etanol). Ao balão que continha a teofilina e o etanol foi adicionando um condensador e foi colocado durante 1 hora a 80°C com agitação. Após arrefecimento alguma da teofilina precipitou e foi filtrada de forma a obter a solução saturada [126].

A solução de tetraciclina em etanol para impregnação foi preparada num balão volumétrico (10 mL), onde foi adicionado 70 mg de tetraciclina ao etanol, em seguida a mistura colocada com agitação durante a noite.

O etanol foi usado como solvente para impregnação em substituição da água de forma a evitar a solubilização da amostra durante o processo de impregnação (carragenano é insolúvel em etanol)

As amostras de aerogel a impregnar foram pesadas e colocadas num frasco contendo 10 mL (consoante a massa do pedaço de aerogel) de solução saturada de teofilina/tetraciclina. O aerogel permaneceu na solução saturada de fármaco e sob agitação durante 48h.

Depois do fármaco ser impregnado, o aerogel foi retirado da solução, por filtração e lavado com etanol para retirar o excesso de fármaco não adsorvido que se possa encontrar à

superfície do aerogel. Seguidamente o aerogel foi colocado na estufa a vácuo durante meia hora a 40°C até secagem completa e depois pesado. Quando necessário a operação foi repetida até peso constante.

A fim de comparar eficiência de extração, realizou-se também a impregnação da teofilina no gel de [2%κ-car]:[bmim][Ac] com CO₂.

2.4.2. Testes de Libertação de Fármacos

Após a impregnação das amostras procedeu-se à determinação da quantidade total de cada fármaco impregnada nas diferentes matrizes assim como aos ensaios de libertação do fármaco em meio controlado em simulação das condições observadas no intestino (pH 7,4 e T=37°C).

Os valores de absorvância, referentes à quantidade libertada de teofilina foram obtidos por espectroscopia de UV-Vis num espectrofotómetro Thermo Scientific Evolution 201. entre os 300-250 nm, utilizando o comprimento de onda de absorção máxima aos 271nm, os da quantidade libertada de tetraciclina foram lidos dos 400-250nm, utilizando o comprimento de onda de absorção máxima de 364nm.

2.4.2.1. Determinação dos Totais

Materiais

- Aerogéis impregnados;
- Etanol;
- Fármacos (teofilina e tetraciclina).

Métodos

Os aerogéis impregnados com fármaco foram esmagados num almofariz e o pó resultante colocado num frasco contendo 5ml de etanol. A solução foi mantida sob agitação (baixa rotação) durante um dia, de modo a que todo o fármaco presente nos poros do aerogel fosse para a solução de etanol.

Preparou-se as soluções padrão com o fármaco em etanol para a realização de uma reta de calibração. As soluções padrão do fármaco foram preparadas a partir de uma solução de 1g/L

de fármaco em etanol que posteriormente foi diluída para 100mg/L e a partir da qual se preparou as soluções padrão de 1 mg/L, 2,5 mg/L, 5 mg/L, 7,5 mg/L e 10 mg/L. As massas e volumes usados na preparação das soluções foram pesados na balança analítica.

Em seguida as absorvâncias das soluções padrão assim como da solução onde o fármaco foi libertado foram medidas. A absorvância das soluções padrão (de concentração conhecida) permitiu obter uma reta de calibração (Anexo 6.10 – Figura 6.31) e com o Auxílio desta, a quantidade total de fármaco libertado para a solução de etanol foi calculada.

2.4.2.2. Ensaios de Liberação de Fármacos

Materiais

- Aerogéis impregnados com fármaco;
- Solução tampão fosfato (0,1M): preparada a partir de solução de KH_2PO_4 1M e K_2HPO_4 1M (pH 7,4);
- H_2O desionizada;

Métodos

À semelhança das soluções padrão em cima descritas, preparou-se nas mesmas condições e concentrações, soluções padrão de teofilina em solução tampão fosfato. No caso da tetraciclina as soluções padrão foram preparadas de igual modo, a partir de uma solução de 1 g/L de tetraciclina em tampão fosfato e a partir da qual se preparou as soluções padrão de 7,5 mg/L, 20 mg/L, 50 mg/L e 100 mg/L. Com as soluções padrão de cada fármaco preparadas, mediu-se a absorvância procedendo-se à realização da reta de calibração (Anexo 6.9 – Figura 6.29 (teofilina) e Figura 6.30 (tetraciclina)) que foi utilizada para o cálculo da concentração de teofilina ou tetraciclina libertada no decorrer do ensaio.

Foram colocados dois erlenmeyers com 50 ml de solução tampão fosfato com agitação em banho-maria a aquecer até aos 37°C, valor que se manteve durante a liberação. Após estabilização do valor da temperatura foi colocado o aerogel na solução de um dos erlenmeyers. No momento que se coloca o aerogel foi retirado do erlenmeyer contendo a amostra 0,5 ml da solução para medição da absorvância (0 minutos – instante inicial). A fim de manter as condições no meio de liberação do fármaco, a cada recolha de amostra foi adicionada igual quantidade de solução fresca de tampão fosfato contida no segundo erlenmeyer. Realizou-se a medição da

absorvância (do mesmo modo que se fez na determinação da absorvância no instante zero), ao fim de 1, 3, 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 180 e 300 minutos.

2.5. Testes de caracterização

2.5.1. Espectroscopia de FTIR-ATR

Os espectros obtidos por FTIR no intervalo de 400-4000 cm^{-1} foram realizados à temperatura ambiente e usando um espectrofotómetro FTIR Cary 630 equipado com uma reflectância total atenuada de diamante (ATR) da Agilent Technologies. A instrumentação possui um detetor dTGS arrefecido termoelectricamente e um separador de feixe com padrão de KBr.

Os espectros foram gravados obtidos com uma resolução de 1 cm^{-1} e 16 scans.

Esta caracterização foi efetuada no Departamento de química (FCT/UNL).

2.5.2. Análises térmicas por TGA e DSC

Na análise de TGA, o aparelho utilizado foi um analisador termogravimétrico Seitaram Labsys EVO. As amostras a analisar foram colocadas num sistema em equilíbrio, onde foram aquecidas desde os 20°C aos 500°C aumentando 10°C por minuto sob uma atmosfera de argon.

A análise de DSC foi realizada com um DSC Q2000 da TA Instruments Inc. (tecnologia Tzero DSC) operando na opção de Heat Flow T4P. As medições foram efetuadas com azoto anidro de alta pureza a uma taxa de fluxo de 50 mL por minuto. As amostras a analisar tinham cerca de 3 a 5 mg mais ou menos, foram encapsuladas em cadinhos herméticos Tzero (alumínio) com uma tampa hermética Tzero com um furo de pin-hole para permitir a evaporação de água e solvente e foram submetidas a 2-3 ciclos de arrefecimento e aquecimento entre cerca de -90°C e 250°C a uma taxa de 10°C por minuto.

Estas caracterizações foram efetuadas nos laboratórios de análises (TGA) e no laboratório de técnicas calorimétricas sob supervisão da Prof. Madalena Dionísio (DSC), ambos no Departamento de química (FCT/UNL).

2.5.3. Porosimetria por Adsorção de Azoto (ASAP)

O equipamento utilizado foi um porosímetro gasoso Micromeritics ASAP 2010.

As propriedades texturais dos géis secos de κ -car foram determinadas por isotérmicas de adsorção de azoto, obtidas a 77K. Antes da medição, as amostras são previamente desgaseificadas sob vácuo ($<1\text{mPa}$) a 60°C pelo menos durante 12 horas. A área da superfície específica é determinada pelo método de Brunauer-Emmett-Teller (BET). O volume total de poros foi determinado a uma pressão relativa (p / p_0) de 0,97. A microporosidade foi avaliada aplicando o método do t-plot na faixa de espessura entre 0,35-0,5 nm. O diâmetro médio dos poros foi estimado usando o método Berrett-Joyner-Halenda (BJH). Determinou-se pelo método NLDFT (*“Non-Local Density Functional Theory”*) a distribuição do volume de poros (cumulativo e diferencial), presentes nos géis secos produzidos.

Esta caracterização foi efetuada no laboratório de análises do Departamento de química (FCT/UNL).

2.5.4. Microscopia Eletrónica de Varrimento (SEM)

O aparelho utilizado para registar as imagens obtidas por microscopia eletrónica de varrimento foi um microscópio Hitachi S2400 operando a 5 kV (IST- U. Lisboa). Depositou-se um filme de ouro sobre as amostras para minimizar o carregamento e melhorar o contraste da imagem.

3. Resultados e discussão

3.1. Extração de Carragenano a partir da Alga *musgo irlandês*

Nas Tabelas 3.1 a 3.3 são apresentadas as massas extraídas e os respetivos rendimentos de extração (η (%)) calculados com base na massa de alga seca usada em cada extração, para os diferentes solventes de acordo com:

$$\eta (\%) = (\text{massa de extrato seco} / \text{massa alga seca}) \times 100$$

Este rendimento de extração foi comparado com o valor cedido na folha de especificações da alga (presente no Anexo 6.4 – Figura 6.3) para os hidratos de carbono (sem açúcares incluídos).

O valor médio apresentado para a extração com o LI [bmim][Ac] é referente a 3-4 extrações. A título indicativo são apresentados os valores obtidos para uma extração isolada com solução aquosa do LI [THMP][Cl] para as concentrações de 1 e 10% (m/v), com a solução aquosa do LI [Ch][Mal] realizou-se 3 extrações para a concentração de 1% (m/v) e apenas uma extração isolada para 10% (m/v).

Tabela 3.1 - Rendimento médio de extração a partir de 2 g de alga seca e utilizando unicamente H₂O como solvente de extração.

H ₂ O			
Amostra	Massa Final (g)	η (%)	η médio (%)
1	0,228	11,4	
2	0,245	12,3	11,9 \pm 0,5
3	0,242	12,1	

Tabela 3.2 - Rendimento médio de extração a partir de 2g de alga seca e utilizando uma solução aquosa de NaOH (0,5%) como solvente de extração.

NaOH			
Amostra	Massa Final (g)	η (%)	η médio (%)
1	0,579	28,9	
2	0,463	23,1	25,9 \pm 3,0
3	0,512	25,6	

Tabela 3.3 - Rendimento médio de extração a partir de 2g de alga seca e utilizando uma solução aquosa de Ca(OH)₂ (0,5%) como solvente de extração.

Ca(OH) ₂			
Amostra	Massa Final (g)	η (%)	η médio (%)
1	0,459	23,0	
2	0,364	18,4	20,3 \pm 2,3
3	0,430	21,5	
4	0,368	18,4	

Analisando os resultados obtidos da extracção dita tradicional verifica-se que é utilizando o NaOH (Tabela 3.2) que se consegue obter uma maior percentagem de extrato (25,9%), sendo este um solvente bastante utilizado na extracção do carragenano [22] [23] [151] [152]. Seguida da extracção com Ca(OH)₂ (Tabela 3.3) (20,3%) e da extracção com a água (Tabela 3.1) em que apenas se consegue extrair 11,9% de extrato.



Figura 3.1 - Precipitação da massa extraída (esquerda) e após secagem (carragenano) (direita) utilizando a solução aquosa de NaOH.

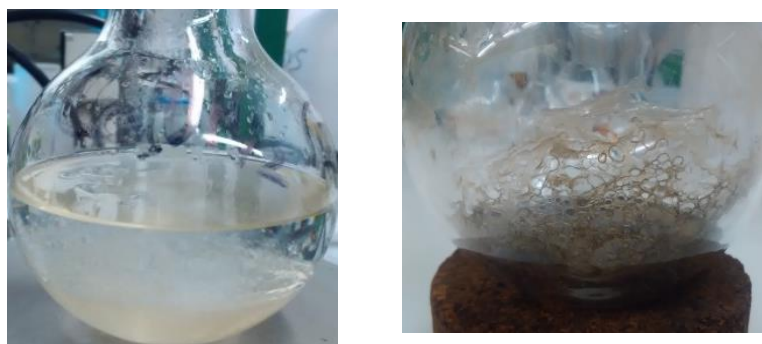


Figura 3.2 - Precipitação da massa extraída (esquerda) e após secagem (carragenano) (direita) utilizando a solução aquosa de $\text{Ca}(\text{OH})_2$.



Figura 3.3 - Precipitação da massa extraída (esquerda) e após secagem (carragenano) (direita) utilizando H_2O .

Os extratos que se obtiveram por dissolução nas soluções alcalinas apresentavam uma tonalidade verde (NaOH) e castanha ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) provavelmente devido ao facto de se extrair simultaneamente pequenas quantidades de pigmentos, tais como a clorofila existente na alga. O extrato obtido a partir da extração em H_2O , apresentava ter uma cor acastanhada, mas muito clara

quase transparente. Imagens do extrato precipitado por adição de um álcool e após secagem são apresentadas nas Figuras 3.1-3.3 para as diferentes extrações efetuadas.

Seguidamente serão apresentadas nas Tabelas 3.4-3.7 os resultados obtidos na extração com H₂O aditivada com diferentes LIs. As imagens do extrato precipitado por adição de um álcool e após secagem são apresentadas nas Figuras 3.4-3.6 para as extrações realizadas com H₂O aditivada com os diferentes LIs.

Tabela 3.4 - Rendimento de extração obtido a partir de 1 g de alga seca e utilizando respectivamente [bmim][Ac] 1% (m/v) em H₂O como solvente de extração.

[bmim][Ac] 1%			
Amostra	Massa final (g)	η (%)	η médio (%)
1	0,138	13,8	
2	0,115	11,5	11,8 \pm 1,8
3	0,102	10,2	

Tabela 3.5 - Rendimento de extração obtido a partir de 0,5 g de alga seca e utilizando respectivamente [bmim][Ac] 10% (m/v) em H₂O como solvente de extração.

[bmim][Ac] 10%			
Amostra	Massa final (g)	η (%)	η médio (%)
1	0,043	8,6	
2	0,063	12,6	11,4 \pm 1,9
3	0,059	11,8	
4	0,063	12,6	

Tabela 3.6 - Rendimento de extração obtido a partir de 0,5 g de alga seca e utilizando [Ch][Mal] 1% e 10% (m/v) em H₂O como solvente de extração.

Amostra	[Ch][Mal]		
	Massa final (g)	η (%)	η médio (%)
	0,262	26,2	
1%	0,073	7,3	12,1
	0,028	2,8	
10%	0,047	9,4	-

Tabela 3.7 - Rendimento de extração obtido a partir de 0,5 g de alga seca e utilizando [THMP][Cl] 1% e 10% (m/v) em H₂O como solvente de extração.

Amostra	[THMP][Cl]	
	Massa final (g)	η (%)
1%	0,108	10,8
10%	0,070	14,0

O rendimento de extração obtido com H₂O aditivada com diferentes quantidades de LI é em regra francamente inferior à que é possível extrair na extração dita tradicional (NaOH e Ca(OH)₂) e semelhante à percentagem extraída utilizando somente a água.

Os valores de rendimento obtidos nas três extrações com H₂O aditivada com 1% de [Ch][Mal] são bastante dispares entre si, seria necessário realizar mais extrações de modo a tentar uniformizar os resultados.

Para o LI [bmim][Ac] procedeu-se ainda a uma extração sem autoclave à temperatura de 85°C pelo tempo de 15 h. Os valores para o rendimento de extração são apresentados na Tabela 3.8. Valores muito inferiores aos determinados para a extração aquosa foram determinados.

À semelhança de experiências realizadas por outros autores [103] também foi extraído carragenano com 100% de LI, no entanto, o extrato tinha na sua constituição bastante LI mesmo após sucessivas lavagens. Dada a pequena massa de alga inicial usada na extração não foi possível isolar a massa extraída por perdas nos processos de lavagem e filtração

Tabela 3.8 - Rendimento de extração a partir de 1 g de alga seca e moída, fora do autoclave utilizando [bmim][Ac] 1% e 10% em H₂O (m/v) como solvente de extração.

Amostra	[bmim][Ac]	
	Massa final (g)	η (%)
1%	0,045	4,5
10%	0,005	0,5

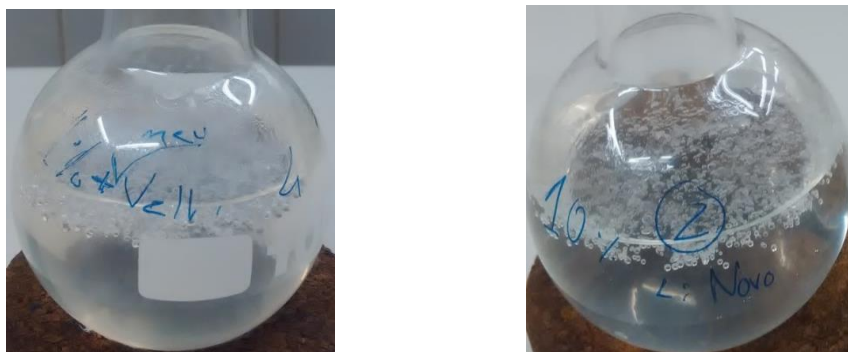


Figura 3.4 - Precipitação do extrato obtido por extração com 1% (à esquerda) e 10% (à direita) de [bmim][Ac].



Figura 3.5 - Precipitação do extrato obtido por extração com 10% (à esquerda) e 1% (à direita) [Ch][HMal].



Figura 3.6 - Precipitação do extrato obtido por extracção com 10% (à esquerda) e 1% (à direita) de [THMP][Cl].

Tanto quanto foi possível verificar não existe literatura publicada com a aplicação de LIs à extração do carragenano, mas resultados muito positivos foram obtidos para as extracções de outros polissacarídeos tais como agarose com LIs e κ -car com solventes eutécticos. Rendimentos de extração nestes casos (dependendo do tratamento térmico e dos LIs ou solventes eutécticos utilizados) situaram-se entre 2,5% e 39% para a agarose [6] e entre 30% e 60% para o κ -car [103]. Sendo o carragenano um polímero iónico, propriedades do meio de dissolução como pH e força iónica poderão influenciar em grande medida a capacidade de extração por parte de um solvente. No presente trabalho, em primeira análise, a presença de pequenas quantidades de LI (1 e 10 % (m/v)) na água de extração não influenciou o rendimento de extração pelo que um aumento da força iónica no seio da solução não demonstrou ser determinante na capacidade de extração. Por outro lado, valores de pH determinados para as diferentes soluções de LIs variam entre 2.9 ([THMP][Cl]), 3.6 ([Ch][HMal]) e 6.1 ([bmim][Ac]). Tratam-se de valores inferiores aos existentes nas soluções alcalinas (pH>8) onde a extração é otimizada. Para valores superiores de acidez da solução de extração, a protonação dos grupos COO^- e SO_3^- ocorre com a consequente redução da repulsão electrostática entre moléculas. Por sua vez, a maior coesão entre as moléculas pode resultar num aumento da viscosidade em solução, que poderá estar na origem na redução da capacidade em extrair o polímero a partir da matriz inicial hidratada com soluções aquosas contendo os diferentes LIs usados. Uma outra possibilidade para os resultados obtidos prende-se com o procedimento experimental para o processo de extração. O procedimento adotado a partir do estabelecido para a extração alcalina prevê a substituição da solução aquosa contendo o alcalino por água antes do tratamento térmico, em parte para diminuir a possibilidade de degradação do polímero a ser extraído. A função da solução aquosa alcalina será a de hidratar a alga facilitando a troca de iões (OH^-) para o interior dos tecidos da alga que serão responsáveis por um rearranjo molecular e consequentemente pela extração do polímero. Para os iões de dimensão superior existentes nos LIs usados, a difusão para o interior da alga poderá ter sido dificultada e efetivamente ao ser substituída a solução aquosa aditivada com LI por água, a

quantidade de LI no sistema antes do tratamento térmico terá sido muito limitada. Consequentemente os resultados obtidos foram muito semelhantes aos obtidos a partir da extração aquosa.

Os valores referentes à extração efetuada sem autoclave, usando água aditivada com [bmim][Ac], são muito inferiores aos obtidos na autoclave e poderão refletir o efeito do menor valor de pH em solução como descrito anteriormente ou, a degradação do polímero sujeito a uma temperatura elevada (85°C) durante um período de tempo alargado (cerca de 15h) em frações poliméricas de cadeia mais pequena que não precipitam no álcool.

Assim sendo, a aditivação de LIs ao solvente de extração não acarretou qualquer vantagem relativamente ao uso de água para extrair carragenano.

O processo de extração utilizando LIs terá de ser melhorado tendo em conta o tipo de LI utilizado e o seu carácter básico. A possibilidade de associar o LI a métodos de extração mais sustentáveis tal como micro-ondas e ultrassons que permitam a destruição das paredes celulares da alga através da utilização de tempos menores de extração e temperaturas mais baixas poderá trazer resultados mais promissores.

A partir dos dados cedidos pelo fornecedor das algas utilizadas na extração (Anexo 6.4 Figura 6.3) sabe-se que a percentagem média de hidratos de carbono (entre os quais o carragenano) presente nas algas é de cerca de 25%. O carragenano é provavelmente o hidrato de carbono que se encontra nas algas deste tipo presente em maior quantidade, assim sendo e analisando as percentagens médias de extração obtidas, as soluções alcalinas de NaOH e Ca(OH)_2 foram bastante efetivas na extração do carragenano presente na alga. É, no entanto, possível que se extraia outros componentes das algas para além dos hidratos de carbono como por exemplo pigmentos e lípidos.

Mesmo depois das sucessivas lavagens obteve-se em alguns casos carragenano (extrato) contaminado com LIs especialmente quando a percentagem de LI é maior. Assim sendo seria necessário averiguar sobre a possibilidade de otimizar o processo de lavagem da massa de polímero extraída.

3.2. Géis de κ -car

Como referido anteriormente foram preparados géis de κ -car 2% (m/v) em água, com a adição KSCN ([2% κ -car]:[KSCN]) e KCl ([2% κ -car]:[KCl]) e géis com 2% e 10% (m/m) de κ -car por dissolução em diferentes LIs ([2% κ -car]:[bmim][Ac]; [10% κ -car]:[bmim][Ac]; [2% κ -car]:[bmim][Cl]; [10% κ -car]:[bmim][Cl]).

Inicialmente tentou-se obter géis com adição de sais com uma concentração de sal superior (soluções de 1,2 M e 2,4M de KCl e KSCN) tal como descrito em [90], no entanto para estes valores de concentração a formação do gel rígido e pouco homogéneo ocorreu logo após a adição da solução o que impedia a obtenção de pequenos volumes para obtenção das amostras constituídas por monólitos cilíndricos. Assim sendo, 0,6M foi a concentração de sal escolhida para trabalhar, uma vez que permitiu uma boa homogeneidade por agitação continua da solução de κ -car até à retirada do volume usado na produção do monólito. No entanto o gel era mais rapidamente formado com a adição do KSCN, o que está de acordo com o facto do anião SCN^- ser um maior estabilizador da dupla hélice do que o anião Cl^- conforme referido anteriormente na secção de materiais e métodos.

De uma análise visual não foram detetadas diferenças no aspeto dos géis produzidos com os dois sais, ambos eram transparentes e incolores e como se pode constatar na Figura 3.7 (1 e 2).

Após as lavagens com as misturas de etanol-água de diferentes composições, os géis obtidos apresentaram-se sem alterações aparentes no volume e na forma.

Nos géis produzidos por dissolução com os LIs foi estudado o efeito da concentração de polímero e a capacidade de dissolução de cada um dos LIs em estudo. Para a mesma temperatura e tempo de dissolução, verificou-se a formação de gel com o [bmim][Ac] e o [bmim][Cl], mas não foram obtidos géis com o [Ch][HMal] e o [THMP][Cl]. O carragenano quando dissolvido em [THMP][Cl] não voltou a solidificar e quando dissolvido em [Ch][HMal] formou géis frágeis que se desfaziam com a permanência na mistura etanol/água. A formação de géis frágeis poderá estar relacionada com uma possível desestabilização da dupla hélice com a elevada densidade de carga negativa no anião maleato ([Ch][HMal]). No caso do LI [THMP][Cl], os quatro grupos $-\text{CH}_2\text{OH}$ a rodear o ião fósforo de carga positiva poderão impedir a formação da dupla hélice por repulsão dos grupos funcionais do polímero carragenano intervenientes na sua formação. O pH do IL [THMP][Cl] em solução aquosa a 80%, medido em laboratório, é cerca de 2.5 ao qual a maioria dos grupos $-\text{COO}^-$ e $-\text{SO}_3^-$ do carragenano se encontram protonados e, portanto, não disponíveis para reticular.

Os géis obtidos por dissolução de 2% (m/m) de κ -carragenano nos LIs [bmim][Ac] e [bmim][Cl] apresentavam-se transparentes (Figura 3.7 (3 e 5, respectivamente)), mas ao aumentar a concentração em carragenano (10% (m/m)), os géis tornaram-se mais opacos e rígidos (Figura 3.7 (4 e 6, respectivamente)). Por sua vez, os géis obtidos por dissolução do polímero em [bmim][Cl] nas duas concentrações diferentes eram mais opacos e rígidos que os géis produzidos por dissolução em [bmim][Ac]. De uma forma geral os géis κ -car obtidos por dissolução em LIs são mais opacos e rígidos do que os géis obtidos por adição dos sais KCl e KSCN. Kamalesh Prasad et al. [153] obtiveram géis duros de κ -car com [bmim][Cl]. Estes autores conseguiram também obter géis de λ -car por dissolução em [bmim][Cl], o que demonstra a capacidade dos LIs em melhorar as propriedades mecânicas dos géis formados por dissolução em LIs, uma vez que o λ -car não forma géis em solução aquosa.

Os géis descritos anteriormente foram produzidos a partir do κ -car comercial (Cargill (RPM 87 R1)) no entanto procedeu-se também à dissolução do κ -car obtido por extração com [bmim][Ac] de forma a obter um gel de 2% (m/m) em κ -car. O gel apresentava um aspeto uniforme e semelhante aos anteriormente produzidos, no entanto após a mudança da mistura para etanol-água 50% o gel perdeu estabilidade e começou a desfazer-se. Este facto pode ser indicativo de uma alteração ao nível estrutural do κ -car extraído impeditiva do estabelecimento de uma rede bem organizada necessária à estabilização da matriz de gel.

3.3. Secagem de Géis com CO₂ Supercrítico

De uma forma geral, o volume dos aerogéis obtidos por secagem diminui bastante, sendo que essa diminuição é mais visível nos géis de κ -car com adição de sais, como se pode ver na Figura 3.7 (1 e 2). Depois de secos os géis tornam-se completamente opacos de coloração branca, mas mantém a forma original sem ocorrência de deformação. Os géis antes e depois de secos preparados com maior concentração de κ -car por diluição nos LIs, especialmente com [bmim][Cl], eram mais rígidos que os preparados com menor concentração. Os aerogéis sintetizados com [bmim][Ac] tinham um aspecto e textura mais esponjoso, assemelhando-se a um esferovite.

Por medição com o auxílio de um paquímetro, mediu-se a altura e o diâmetro do gel antes e após a secagem supercrítica e calculou-se a percentagem de volume perdido após secagem. Na Tabela 3.9 e nas Tabelas 6.1-6.6 no Anexo 6.5 encontra-se indicada a perda de volume em percentagem para cada caso estudado.

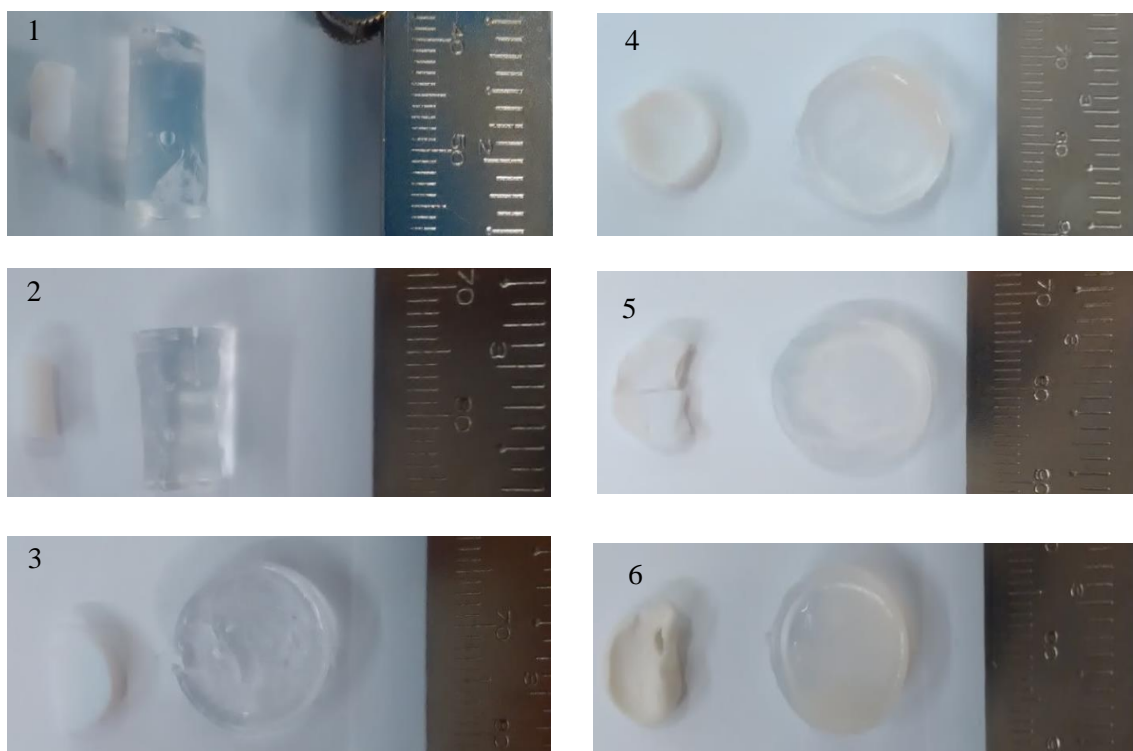


Figura 3.7 - Fotografias dos alcogéis (direita) e os géis secos (esquerda). 1-[2%κ-car]:[KSCN] 2- [2%κ-car]:[KCl] 3- [2%κ-car]:[bmim][Ac] 4- [10%κ-car]:[bmim][Ac] 5- [2%κ-car]:[bmim][Cl] 6- [10%κ-car]:[bmim][Cl].

Analisando as várias imagens presentes na Figura 3.7 (1 e 2) verifica-se uma perda de volume significativa após a secagem supercrítica, especialmente nos géis com KSCN e KCl.

A perda de volume no processo de secagem foi calculada de acordo com:

$$\text{Percentagem de perda de volume (\%)} = \frac{(Vm_{hidrogel} - Vm_{aerogel})}{Vm_{hidrogel}} \times 100$$

Onde $Vm_{hidrogel}$ corresponde ao volume médio do hidrogel e $Vm_{aerogel}$ ao volume médio do aerogel.

Tabela 3.9 - Volume médio dos hidrogéis e aerogéis e percentagem de volume perdido de vários géis.

Gel	Volume médio dos hidrogéis (mm ³)	Volume médio dos aerogéis (mm ³)	Percentagem de perda de volume (%)
[2%κ-car]:[KSCN]	829 ± 113 ¹	73 ⁴	91
[2%κ-car]:[KCl]	630 ± 50 ¹	86 ± 24 ²	86
[2%κ-car]:[bmim][Cl]	829 ± 82 ²	317 ⁴	62
[10%κ-car]:[bmim][Cl]	870 ± 73 ²	313 ± 165 ³	64
[2%κ-car]:[bmim][Ac]	951 ± 132 ²	337 ± 119 ³	65
[10%κ-car]:[bmim][Ac]	1145 ± 34 ²	352 ⁴	69

Nota: ¹ Valores referentes a 4 amostras; ² Valores referentes a 3 amostras; ³ Valores referentes a 2 amostras, ⁴ Valores referentes a 1 amostra.

Analisado os resultados obtidos verifica-se que os géis formados com adição de sais têm uma maior percentagem de perda de volume após secagem, sendo em ambos os casos próxima de 90%. No artigo de Françoise Quignard et al. [89], foram obtidos aerogéis de κ-car com adição de KCl com secagem por scCO₂ com uma redução de volume de 95%, usando etanol como solvente. O valor de percentagem de perda de volume, obtida neste trabalho para o aerogel com KCl encontra-se relativamente próximo do obtido por Françoise Quignard et al. Porém Kathirvel Ganesan e Lorenz Ratke [90] conseguiram obter aerogéis de κ-car com adição de KSCN com uma percentagem de perda de volume de apenas 33%. Este valor está bastante longe dos valores obtidos no decorrer deste trabalho. O facto de se ter reduzido a concentração da solução salina poderá ter influenciado as propriedades mecânicas do gel e conduzido às diferenças no resultado final. De salientar que no referido trabalho a acetona foi escolhida como solvente de lavagem enquanto neste trabalho a mistura etanol/água foi usada na precipitação/lavagem do gel. O solvente de precipitação também pode ser determinante na maior ou menor redução do volume do gel.

Uma possível explicação para a elevada perda de volume do aerogel após secagem em relação ao hidrogel, poderá ser o facto de a estrutura polimérica do gel ser flexível, quando o gel está molhado (hidrogel) existe uma força de repulsão entre as fibras do polímero que diminui depois de seco levando a que as fibras mais flexíveis tendam a juntar-se, levando à diminuição do volume.

A perda de volume (62-69%), é um pouco atenuada com a utilização de LI na dissolução do polímero, não se registando uma diferença significativa na perda de volume quando se aumenta a concentração de κ-car ou quando se muda de anião. A menor perda de volume quando

comparada com a observada para os aerogéis produzidos por adição de KCl e KSCN poderá ser devida a diferentes mecanismos de formação da rede polimérica aquando o uso de LIs que conduzam a uma menor flexibilidade (ou maior robustez mecânica) da estrutura resultante, tornando-a menos suscetível a encolhimento.

O encolhimento verificado para todos os aerogéis era uniforme, não ocorrendo apenas num sentido (como por exemplo axialmente).

É importante que a perda de volume no gel seja a menor possível de modo a que as propriedades e sua estrutura se mantenham após secagem, se o encolhimento for muito acentuado e sobretudo, ocorrer deformação, o aerogel passa a ser ineficaz para qualquer tipo aplicação. [90]

Géis produzidos com adição de KSCN e por dissolução em [bmim][Ac] (2%) foram adicionalmente secos pelo processo de liofilização a fim de comparar com os resultados anteriores, num liofilizador Telstar LyoQuest (modelo LyoQuest -55 / 230 V 50Hz). As amostras foram previamente colocadas em azoto líquido e as condições de liofilização utilizadas foram de $-50,4^{\circ}\text{C}$ e 0,204mbar. Na Figura 3.8 podem observar-se os géis secos. Como se pode constatar existe uma grande deformação no monólito. O gel seco apresentava-se completamente quebradiço e a forma inicial não foi mantida. Aparentemente o processo de secagem, nas condições utilizadas induziu grandes ruturas na estrutura da rede polimérica.



Figura 3.8 - Gel [2%κ-car]:[KSCN], (à esquerda) e gel [2%κ-car]:[bmim][Ac](à direita), secos por liofilização.

3.4. Testes de Caracterização

As amostras de carragenano extraído foram caracterizadas por FTIR-ATR de forma a verificar se a massa extraída correspondia efetivamente ao polímero desejado. Algumas das amostras extraídas com LIs foram analisadas por DSC de forma a poder averiguar sobre a sua contaminação com LI. Os aerogéis de κ -car foram caracterizados estruturalmente por FTIR-ATR, texturalmente por ASAP e SEM e pelas análises térmicas TGA e DSC. O conjunto das técnicas utilizadas permitiu determinar as propriedades texturais das amostras produzidas assim como a presença ou não de LI como contaminante na amostra final. Em seguida serão apresentados os resultados dos vários testes de caracterização realizados.

3.4.1. Caracterização do Carragenano Extraído

3.4.1.1. Espectroscopia de FTIR-ATR

Na Figura 3.9 está representado o espectro do κ -car da Cargill (carragenano puro).

O κ -car puro tem como bandas características: $1210\text{-}1260\text{ cm}^{-1}$ que corresponde aos grupos éster sulfato; $1010\text{-}1080\text{ cm}^{-1}$ alusiva à ligação glicosídica; $925\text{-}935\text{ cm}^{-1}$ referente à 3,6-anidro-D-galactose; $840\text{-}850\text{ cm}^{-1}$ relativa à D-galactose-4-sulfato [154].

Nas Figuras 3.10 e 3.11 estão representados os espectros do carragenano extraído usando soluções alcalinas (NaOH, $\text{Ca}(\text{OH})_2$) e água em autoclave. No Anexo 6.6 Figuras 6.4-6.7 estão representados os espectros isoladamente na íntegra, para o κ -car puro e para o carragenano extraído com cada um dos solventes.

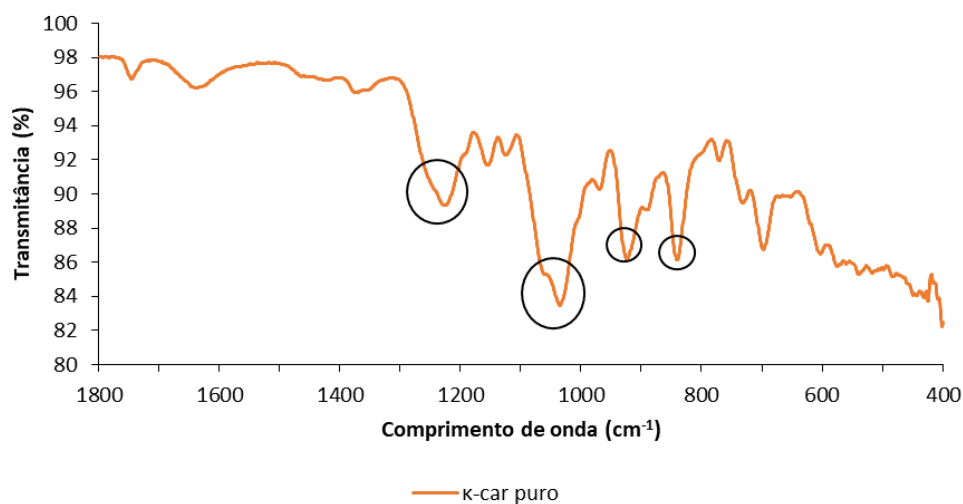


Figura 3.9 - Espectro de FTIR do κ -car puro.

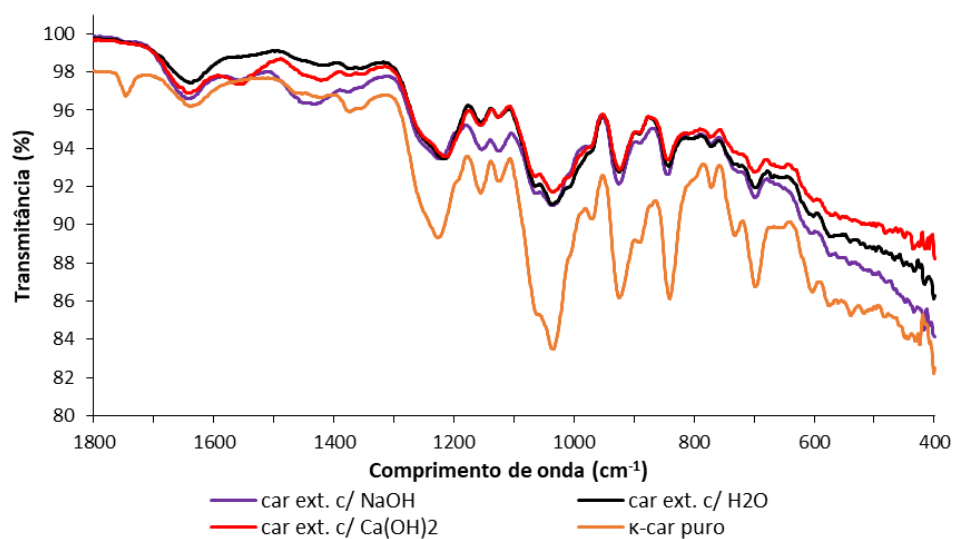


Figura 3.10 - Espectros de FTIR do κ -car extraído com soluções alcalinas e com água em autoclave em comparação com κ -car puro.

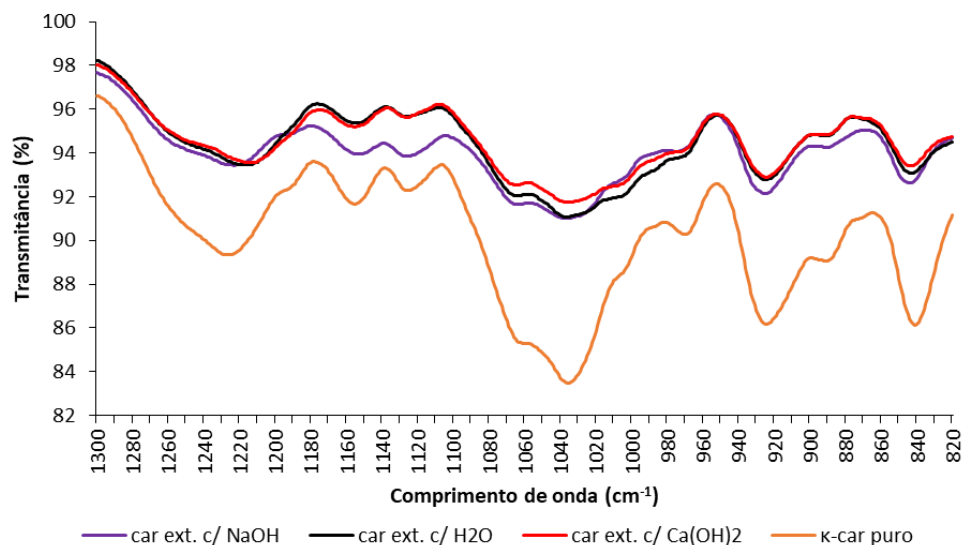


Figura 3.11 - Espectros de FTIR do κ -car extraído com soluções alcalinas e com água em autoclave em comparação com κ -car puro (1300 cm^{-1} a 820 cm^{-1}).

Analisando as Figuras 3.10-3.11 verificamos que o carragenano extraído com os referidos solventes, apresenta todas as bandas características do κ -car puro.

Nas Figuras 3.12-3.19 encontram-se os espectros do carragenano extraído com soluções aquosas dos diferentes LIs usados e para as diferentes concentrações aditivadas. Em anexo (Anexo 6.6 Figuras 6.8-6.17) estão representados os espectros FTIR na íntegra para os LIs isoladamente e para as amostras de carragenano extraído.

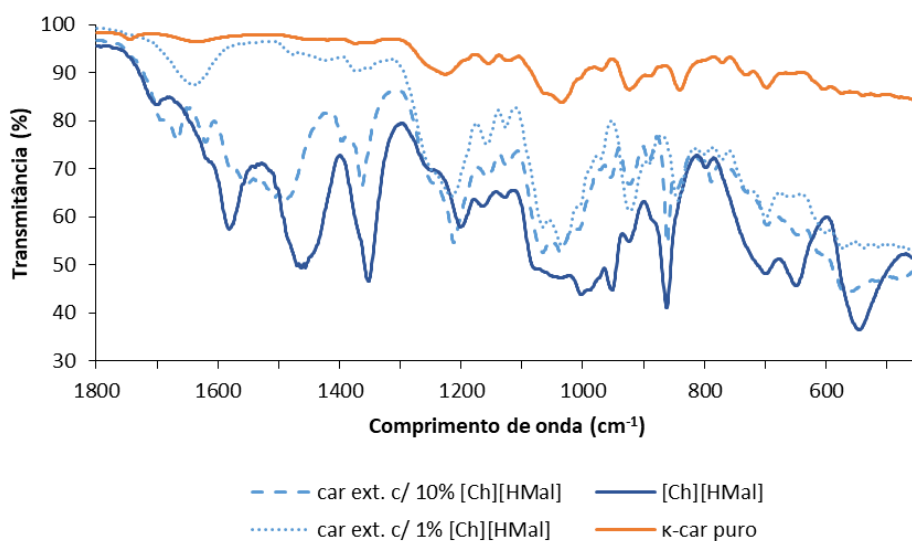


Figura 3.12 - Espectros de FTIR do κ -car extraído com 1% e 10% de $[\text{Ch}][\text{HMal}]$, do $[\text{Ch}][\text{HMal}]$ e do κ -car puro.

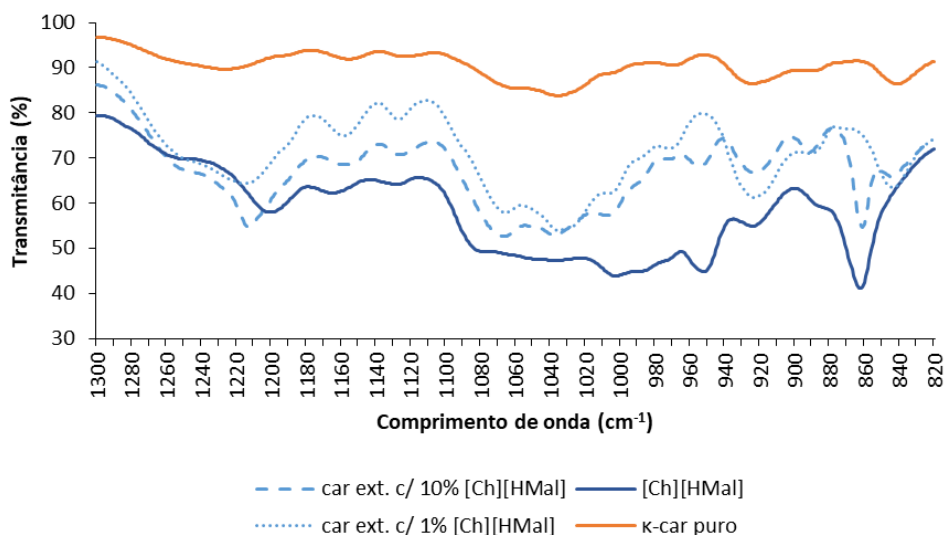


Figura 3.13 - Espectros FTIR do κ -car extraído com 1% e 10% de [Ch][HMal], do [Ch][HMal] e do κ -car puro (1300 cm^{-1} a 820 cm^{-1}).

Os espectros de FTIR (Figura 3.12 e 3.13) para o carragenano extraído com [Ch][HMal] nas concentrações de 1 e 10%, indicam a presença de LI, devido ao aparecimento de algumas bandas características do espectro do LI, sendo as mais evidentes, as bandas entre $1450\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$, $1350\text{--}1360\text{ cm}^{-1}$, $850\text{--}870\text{ cm}^{-1}$ (ver Anexo 6.6 Figura 6.8). Este facto ocorre especialmente no caso do carragenano extraído com solução aquosa contendo 10% de [Ch][HMal]. O espectro de FTIR para o κ -car extraído com [Ch][HMal] nas concentrações de 1% podem indicar a presença de LI, no entanto assemelha-se muito mais ao κ -car puro, apresentando todos os picos característicos.

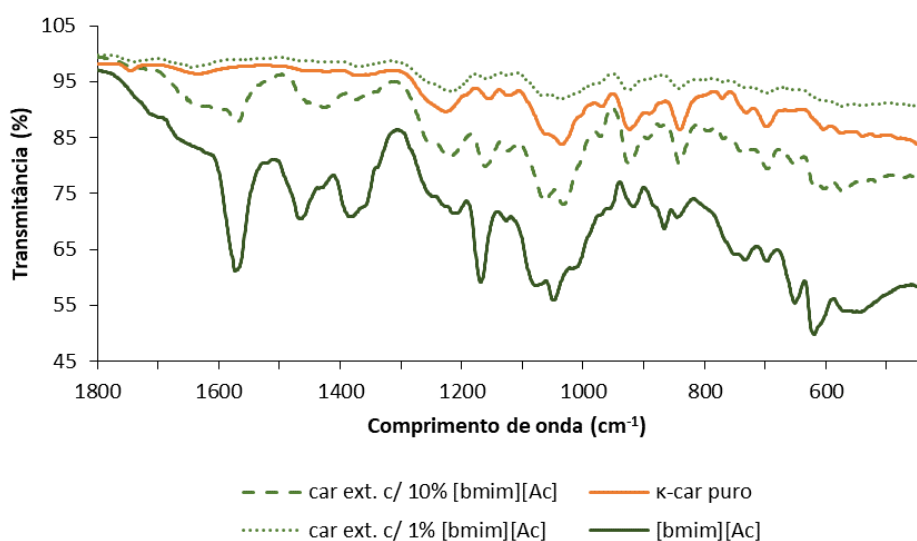


Figura 3.14 - Espectros de FTIR do κ -car extraído com 1% e 10% de [bmim][Ac], do [bmim][Ac] e do κ -car puro.

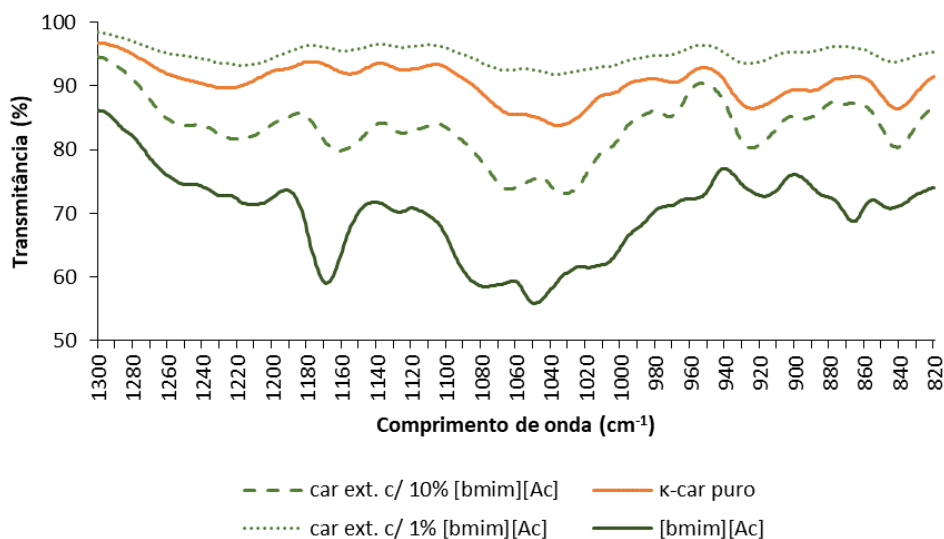


Figura 3.15 - Espectros de FTIR do κ -car extraído com 1% e 10% de [bmim][Ac], do [bmim][Ac] e do κ -car puro (1300 cm^{-1} a 820 cm^{-1}).

O carragenano extraído com água aditivada com 10% [bmim][Ac] apresenta um espectro de FTIR contendo algumas bandas características do LI (por exemplo $1560\text{-}1590\text{ cm}^{-1}$) (ver espectro no Anexo 6.6 Figura 6.11). No entanto é possível observar os picos característicos do κ -car de forma bem definida. O espectro para o carragenano extraído com 1% de LI é semelhante ao κ -car puro não apresentando sinais visíveis de contaminação.

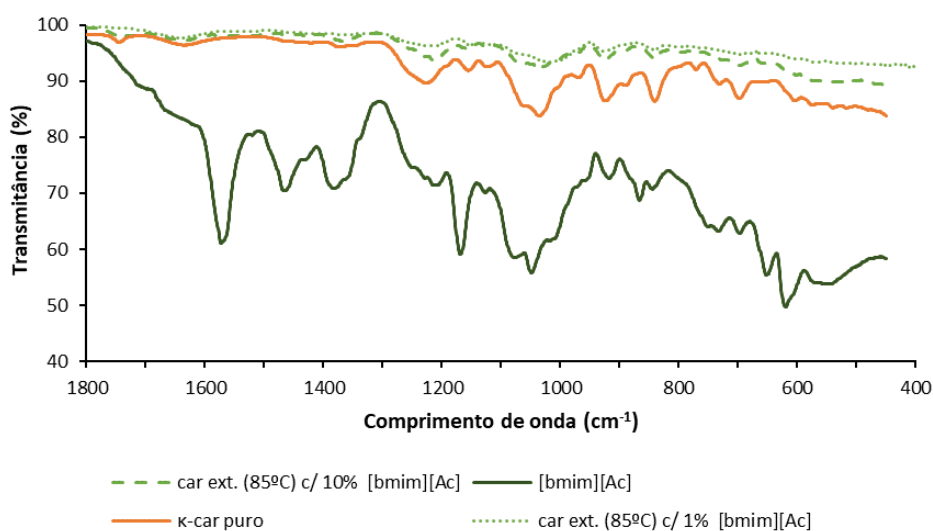


Figura 3.16 - Espectros de FTIR do κ -car extraído de alga moída à $T=85^{\circ}\text{C}$ com 1% e 10% de [bmim][Ac], do [bmim][Ac] e do κ -car puro.

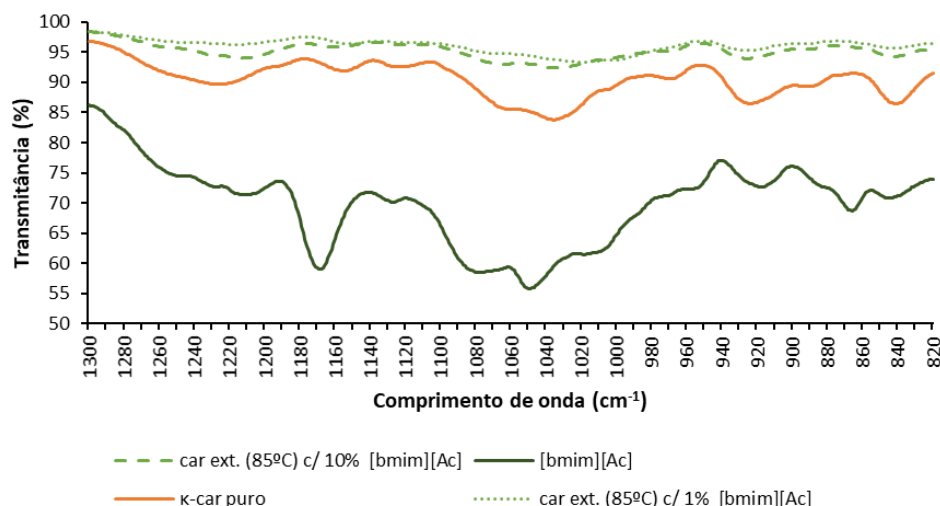


Figura 3.17 - Espectros de FTIR do κ -car extraído de alga moída à $T=85^{\circ}\text{C}$ com 1% e 10% de $[\text{bmim}][\text{Ac}]$, do $[\text{bmim}][\text{Ac}]$ e do κ -car puro (1300 cm^{-1} a 820 cm^{-1}).

Analisando as figuras 3.16 e 3.17 verificámos que os resultados obtidos para as duas concentrações são bastante idênticos e não têm LI presente na sua constituição, sendo possível observar as bandas características do κ -car. Embora o carragenano extraído por este processo tenha demonstrado ser mais puro a quantidade extraída é mínima comparada com a extracção em autoclave, e talvez por isso seja mais fácil de limpar também.

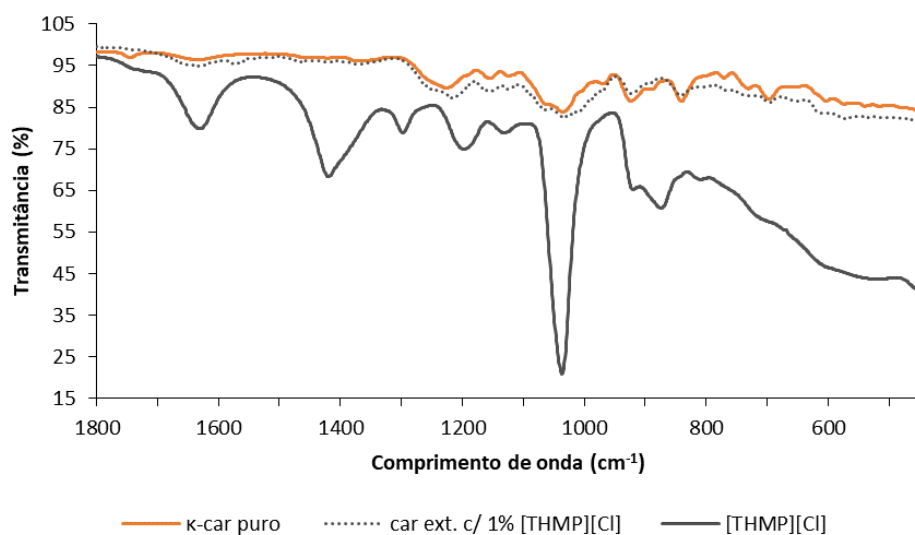


Figura 3.18 - Espectros de FTIR do κ -car extraído com 1% de $[\text{THMP}][\text{Cl}]$, do $[\text{THMP}][\text{Cl}]$ e do κ -car puro.

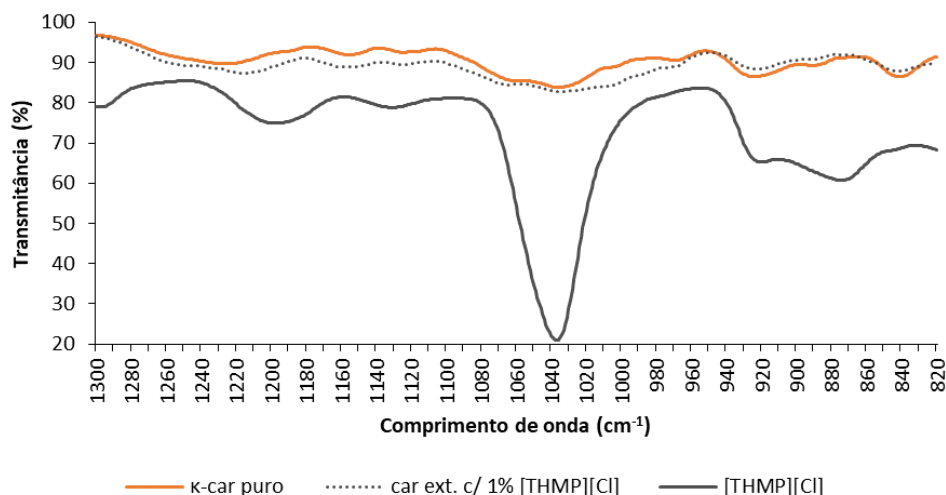


Figura 3.19 - Espectros de FTIR do κ -car extraído com 1% de [THMP][Cl], do [THMP][Cl] e do κ -car puro (de 1300 cm^{-1} a 820 cm^{-1}).

Nas Figuras 3.18-3.19 percebe-se que existe uma grande semelhança entre o espectro do carragenano extraído utilizando o LI [THMP][Cl] e o do κ -car puro apresentado na Figura 3.9, aparentando não haver contaminação de LI, uma vez que há ausência de bandas características do mesmo (ver espectro no Anexo 6.6 Figura 6.16).

Apesar de se ter extraído carragenano com 10% de LI, este não foi submetido a esta técnica de caracterização uma vez que visivelmente se percebia que este se encontrava bastante contaminado com o [THMP][Cl].

A Tabela 6.7 presente no Anexo 6.6, resume os comprimentos de onda das bandas mais relevantes registradas entre 1800-400 cm^{-1} para o κ -car puro, para o κ -car extraído e para os diferentes LIs utilizados.

3.4.1.2. Colorimetria diferencial de varrimento (DSC)

Realizou-se apenas DSC ao carragenano extraído com menor percentagem de LI (1%), uma vez que o carragenano extraído com a maior concentração (10%), após a realização do FTIR-ATR percebia-se que em geral tinha LI na sua constituição e assim sendo era desnecessário recorrer ao DSC para confirmar a presença de LI.

No Anexo 6.7 (Figuras 6.23-6.25) encontram-se os gráficos de DSC referentes aos vários LI utilizados e ao κ -car puro.

Nas Figuras 3.20-3.23 são apresentados os resultados de DSC realizados ao carragenano extraído com os vários LIs utilizados e a comparação entre estes e os próprios LIs.

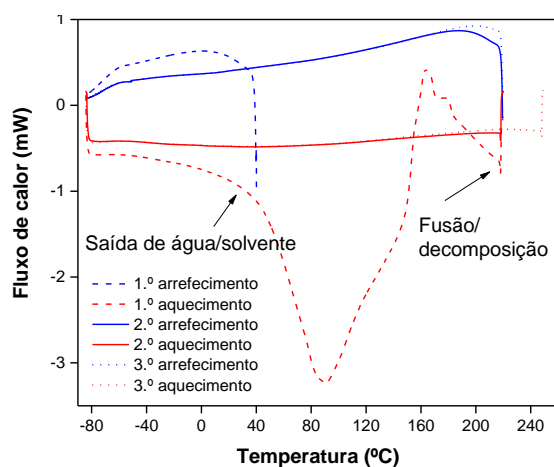


Figura 3.20 - Termograma obtido para o κ -car extraído com 1% de [bmim][Ac].

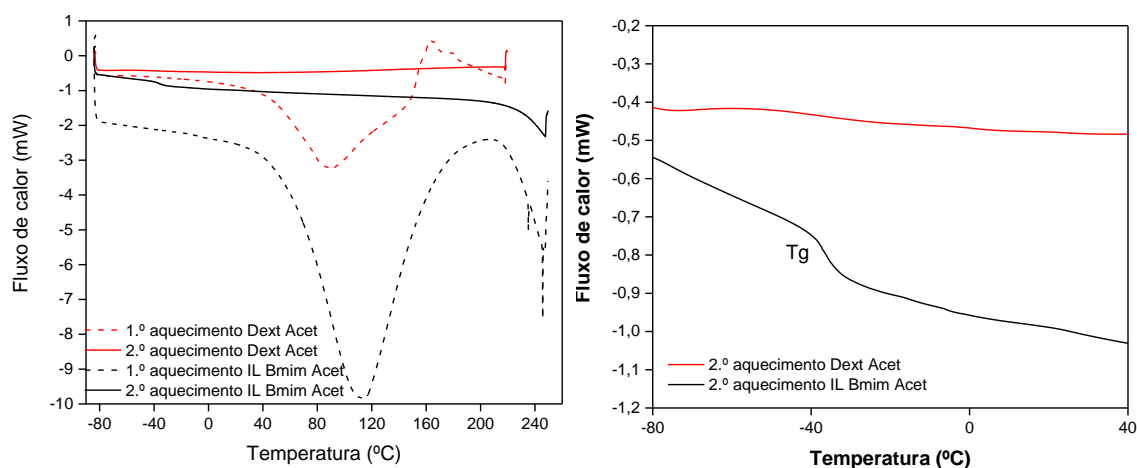


Figura 3.21 - 1ª e 2ª curva de aquecimento obtidas nos termogramas do κ -car extraído com 1% de [bmim][Ac] e do [bmim][Ac].

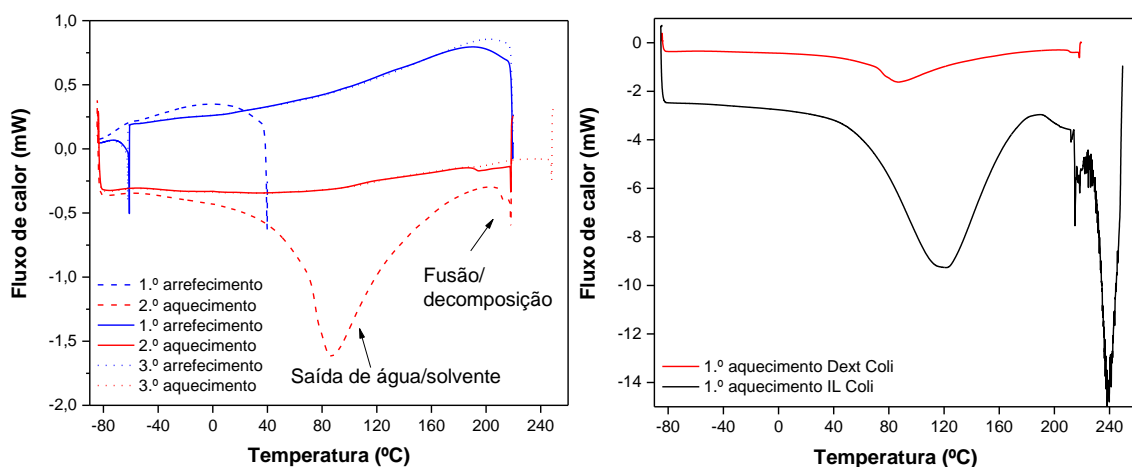


Figura 3.22 - Termograma obtido para o κ -car extraído com 1% de [Ch][HMal] (à esquerda); 1ª curva de aquecimento para o κ -car e [Ch][HMal] (à direita).

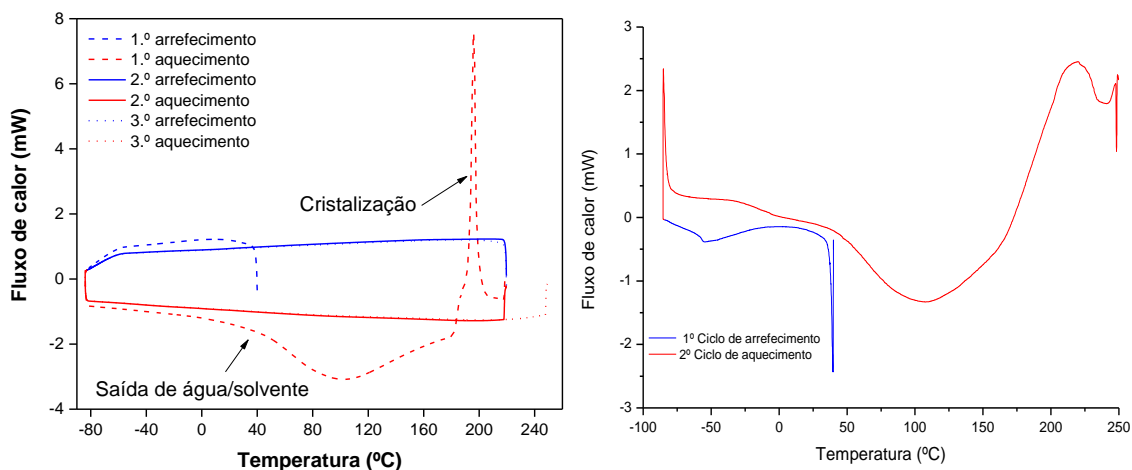


Figura 3.23 - Termograma obtido para o κ -car extraído com 1% de [THMP][Cl] (à esquerda); 1ª curva de arrefecimento e aquecimento para o [THMP][Cl] (à direita).

No primeiro ciclo de aquecimento verificamos a saída de água/solvente (maioritariamente etanol), sendo esta mais acentuada por volta dos 90-100°C. Na Figura 6.23 presente no Anexo 6.7 verifica-se também a saída de água/solvente no κ -puro, sendo esta mais acentuada aos 100-110°C, esta diferença na temperatura resume-se ao facto de no κ -car puro a saída é unicamente de água e no carragenano extraído é maioritariamente etanol e alguma água.

Comparando o termograma obtido para o carragenano extraído com 1% de [bmim][Ac] (Figura 3.21), com o do próprio LI, verificamos que a curva referente ao segundo ciclo de aquecimento da amostra de carragenano, não apresentava a descontinuidade alusiva à transição vítrea do [bmim][Ac], pelo que o carragenano extraído não se encontra contaminado com LI, como foi possível verifica pela análise de FTIR.

O termograma obtido para o [Ch][HMal] (Figura 3.22 e 6.25 (à esquerda) presente no Anexo 6.7) apresenta um pico intenso no primeiro ciclo de aquecimento, referente à fusão/decomposição entre os 200-250°C, e este mesmo pico é observado (Figuras 3.22), mas com menor intensidade, na curva correspondente da amostra de carragenano extraído com este LI, o que indica que esta amostra contém LI.

Analisando o termograma do [THMP][Cl] (Figuras 3.23 e 6.25 (à direita) presente no Anexo 6.7), verifica-se que a curva correspondente ao primeiro ciclo de aquecimento, apresenta um pico por volta dos 200°C referente à cristalização, na amostra de carragenano extraído com este LI, a curva correspondente também apresenta (Figuras 3.23), um pico mais ou menos à mesma temperatura, o que é indicativo da presença de [THMP][Cl] na amostra.

Em investigações futuras seria importante otimizar o processo de lavagem do extrato, de forma a eliminar por completo o LI presente. A escolha de solvente de acordo com a solubilidade

dos diferentes líquidos iónicos e o aumento do número de lavagens poderá ser uma forma de otimizar o processo de eliminação do LI.

3.4.2. Caracterização de aerogéis de κ -carragenano

Em seguida serão apresentados os resultados da caracterização textural e posteriormente da caracterização térmica, realizada aos diferentes aerogéis produzidos no decorrer deste trabalho.

3.4.2.1. Microscopia eletrónica de varrimento (SEM)

Nas Figuras 3.24 ((a) a (f)) encontram-se as imagens de SEM realizadas a um corte transversal e com uma ampliação de 20000x aos géis secos de κ -car produzidos por dissolução nos diferentes solventes.

As imagens obtidas não mostram estrutura de poros visível para os géis de [10% κ -car]:[bmim][Ac] e [10% κ -car]:[bmim][Cl] o que pode ser devido à falta de capacidade dos LIs para dissolver uma maior quantidade de κ -car. Em contrapartida a superfície dos restantes géis que foram preparados exibe uma estrutura reticular formada por fibras interligadas. Nestas estruturas é visível uma distribuição alargada de poros incluindo meso e macroporos. A superfície das amostras [2% κ -car]:[bmim][Ac] e [2% κ -car]:[bmim][Cl] apresentam, contudo, uma estrutura de poros mais aberta com macroporos de dimensão superior enquanto que uma estrutura mais compacta é observada para os aerogéis [2% κ -car]:[KCl] e [2% κ -car]:[KSCN]. Das imagens apresentadas é ainda possível estabelecer que a amostra [2% κ -car]:[KCl] apresenta uma menor macroporosidade. A diferença observada para os aerogéis produzidos pelos diferentes tipos de solventes poderá ser relacionada com o maior encolhimento observado para as amostras [2% κ -car]:[KCl] e [2% κ -car]:[KSCN] que terá levado a uma maior compactação da estrutura reticular das amostras.

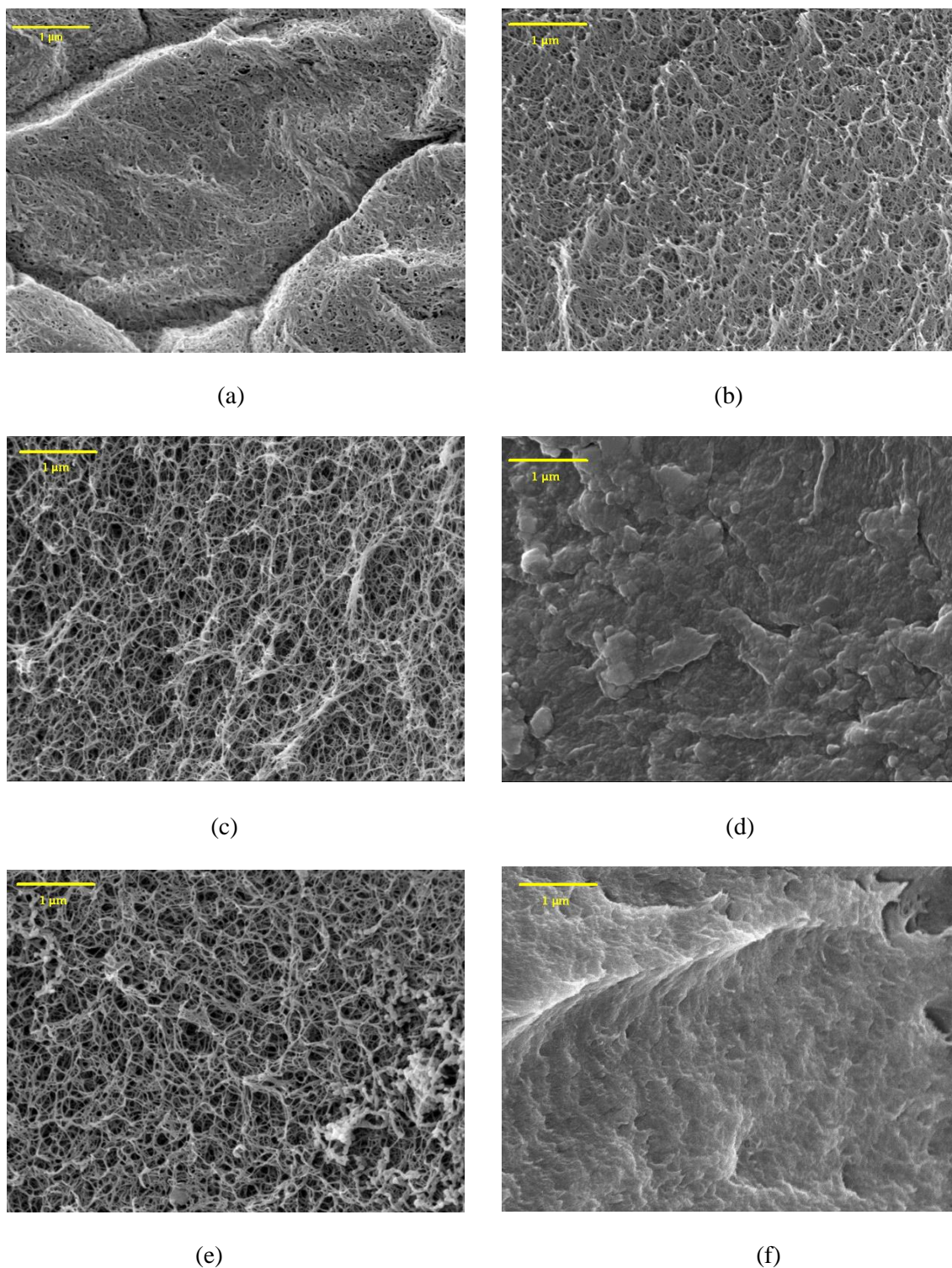


Figura 3.24 – Imagens SEM para a secção transversal dos géis secos de κ -car produzidos numa solução aquosa com adição de sais e por dissolução em LIs: (a) [2% κ -car]:[KCl], (b) [2% κ -car]:[KSCN], (c) [2% κ -car]:[bmim][Ac], (d) [10% κ -car]:[bmim][Ac]), (e) [2% κ -car]:[bmim][Cl] e (f) [10% κ -car]:[bmim][Cl].

3.4.2.2. Porosimetria por adsorção de azoto (ASAP)

A Tabela 3.10 mostra os parâmetros texturais obtidos por porosimetria por adsorção de azoto para os géis de κ -car produzidos por dissolução nos sais KCl e KSCN e LIs [bmim][Cl] e [bmim][Ac] após secagem supercrítica. Esta técnica fornece essencialmente informação sobre a distribuição de micro e mesoporos.

Tabela 3.10 - Parâmetros texturais das matrizes de κ -car produzidas por dissolução nos diferentes solventes utilizados.

Amostra	Área BET (m ² /g)	Volume total de poros (cm ³ /g)	Volume de micróporos (cm ³ /g)
[2% κ -car]:[KCl]	221	0.52	0.03
[2% κ -car]:[KSCN]	123	0.32	0.01
[2% κ -car]:[bmim][Ac]	216	0.32	0.01
[2% κ -car]:[bmim][Cl]	184	0.46	-
[10% κ -car]:[bmim][Ac]	< 5	-	-
[10% κ -car]:[bmim][Cl]	< 5	-	-

De acordo com os valores apresentados na Tabela 3.10 verificamos que as amostras [2% κ -car]:[KCl], [2% κ -car]:[KSCN], [2% κ -car]:[bmim][Ac] e [2% κ -car]:[bmim][Cl] apresentam valores de área superficial específica (BET) semelhantes aos obtidos por outros autores em aerogéis para aerogéis de κ -car produzidos de forma idêntica. A área BET obtida para o aerogel [2% κ -car]:[KCl] está de acordo com a que é relatada na literatura (200 m²/g) [89]. Registou-se também uma melhoria a nível do volume de macroporos (>50nm) em relação ao trabalho desenvolvido por Françoise Quignard et al. [89] ao qual não obtiveram macroporos. Kathirvel Ganesan et al. [155] obtiveram valores de BET superiores ao registado neste trabalho para o [2% κ -car]:[KSCN] (aproximadamente 230 m²/g), neste trabalho a perda de volume foi de apenas 33%.

Apesar dos aerogéis de κ -car apresentarem bons valores de área superficial específica (BET), são em geral inferiores a alguns dos valores determinados para aerogéis de outros polissacarídeos como agar (320 m²/g [156]), alginato (385 m²/g [88]; 298-391 m²/g [157]; 570 m²/g, 390 m²/g [83] [89] [156]; 150-300 m²/g [92]) quitina (220-363 m²/g [158]; 560 m²/g [156]) e quitosano (330 m²/g, 150 m²/g [83] [89] [156]; 472-750 m²/g (quitosano juntamente com sílica); 66-845 m²/g [159]). Márcia G. Ventura et al. [118] obtiveram valores de BET que variavam entre

60-180 m²/g, para aerogéis de goma de alfarroba por dissolução em LIs, produzidos com o mesmo método usado neste trabalho, que são valores inferiores aos registados neste trabalho.

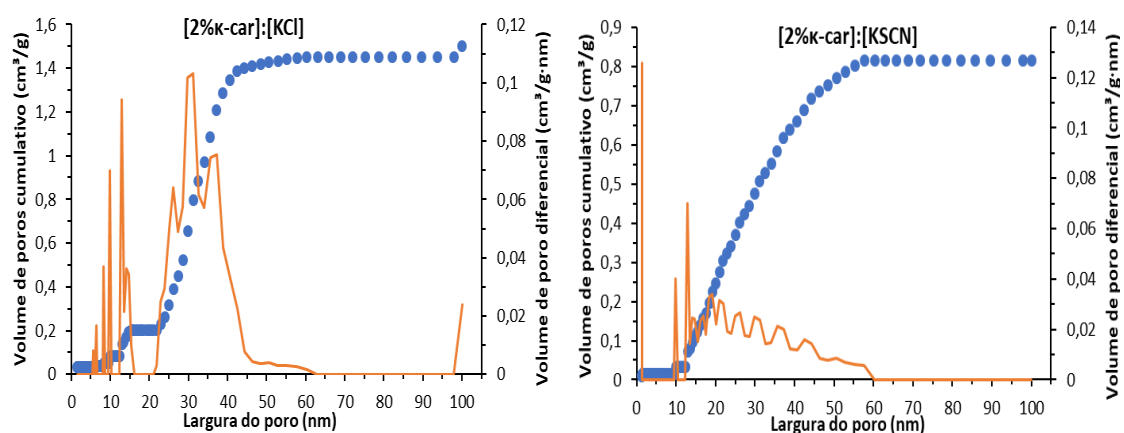
O procedimento experimental, o agente de reticulação utilizado e as condições de secagem supercrítica, são alguns dos parâmetros que podem influenciar as propriedades texturais dos aerogéis.

Os géis secos [10%κ-car]:[bmim][Ac] e [10%κ-car]:[bmim][Cl] não apresentam porosidade ou é de tal forma reduzida que não foi possível determinar o volume dos poros com a técnica utilizada. Este facto está em concordância com as imagens de SEM obtidas. Estas amostras não constituem aerogéis.

As 4 amostras de aerogel apresentam uma microporosidade reduzida (inexistente na amostra [2%κ-car]:[bmim][Cl]) sendo que o volume total de poros determinado é relativo aos mesoporos (2-50 nm). A amostra [2%κ-car]:[KCl] possui o valor mais elevado de área superficial, pelo que o encolhimento observado anteriormente na amostra não terá afetado este parâmetro textural. Para tal terá contribuído o valor superior determinado para volume de micro e mesoporos nesta amostra. Numa primeira abordagem a presença do sal KCl permite um maior grau de reticulação criando uma malha mais apertada na estrutura do aerogel.

Áreas superficiais igualmente elevadas são obtidas para os aerogéis produzidos por dissolução em LIs apesar de algumas diferenças observadas nos valores dos parâmetros texturais.

A Figura 3.25 elucida sobre a distribuição do volume de poros (cumulativo, a azul e diferencial, a laranja), calculado pelo método NLDFT (*Non-Local Density Functional Theory*), permitindo obter uma visão geral sobre a distribuição do volume de micróporos (< 2nm), mesoporos e alguns macroporos) nos aerogéis produzidos.



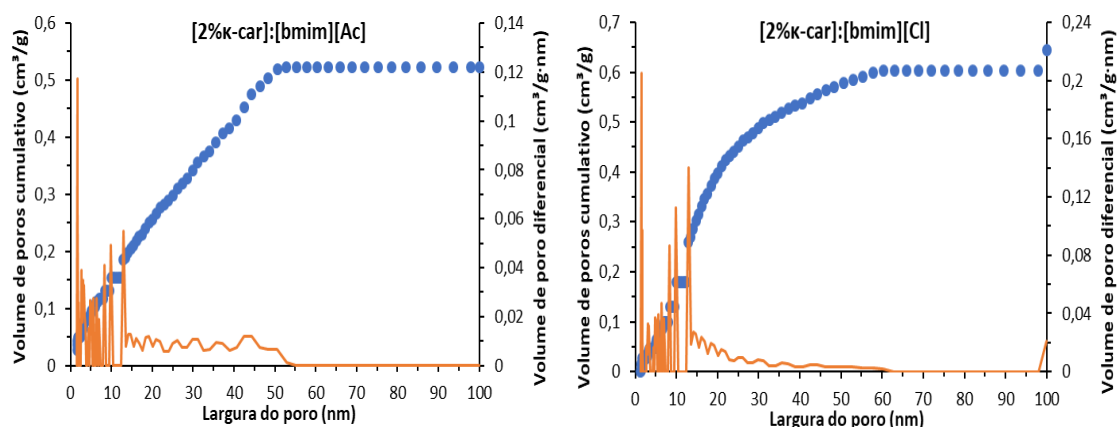


Figura 3.25 - Distribuição do volume de poros (cumulativo (azul) e diferencial (laranja)) pelo método NLDFT dos diferentes aerogéis produzidos.

Os aerogéis [2%κ-car]:[bmim][Ac] e [2%κ-car]:[bmim][Cl] apresentam uma distribuição mais heterogénea de mesoporos (toda ou quase toda a gama de tamanhos representada), com uma maior representatividade de mesoporos de pequenas dimensões, comparativamente aos restantes aerogéis. Este facto poderá ter influenciado os valores igualmente elevados de área BET.

Maior heterogeneidade na distribuição de mesoporos e maior macroporosidade (observada nas imagens de SEM) para as amostras preparadas por dissolução em LIs relativamente às preparadas com outros sais, poderão ser devidas a uma maior variedade de interações (entre as quais pontes de hidrogénio) que o catião e aniões dos LIs utilizados estabelecem com a molécula de carragenano. O maior volume e assimetria do catião [bmim⁺] terão conduzido a uma maior irregularidade na estrutura e consequentemente heterogeneidade na distribuição de poros assim como a poros de maiores dimensões.

Com baixo volume microporoso e poucos mesoporos de pequena dimensão, a amostra [2%κ-car]:[KSCN] apresenta a menor área BET. Por comparação com a amostra [2%κ-car]:[KCl], o anião [SCN⁻], com menor eletronegatividade que o [Cl⁻] e usado para aumentar a estabilidade da dupla hélice e, portanto, da estrutura reticular, não permite um grau de reticulação tão elevado quanto o obtido com [KCl].

A determinação do volume e distribuição de macroporos poderia dar um contributo importante para esta discussão. Efetuou-se a porosimetria de mercúrio, de modo a analisar com maior rigor a presença de macroporos presentes nos aerogéis, no entanto não foi possível concluir tal análise, uma vez que no decorrer desta, as amostras foram destruídas/comprimidas aquando a intrusão do mercúrio nos poros.

3.4.2.3. Espectroscopia de FTIR-ATR

Em seguida são apresentados e discutidos os resultados da espectroscopia de FTIR-ATR efetuados aos aerogéis [2% κ -car]:[KCl], [2% κ -car]:[KSCN], [2% κ -car]:[bmim][Ac] e [2% κ -car]:[bmim][Cl].

Nas Figuras 3.26–3.27 encontram-se representados os espectros de FTIR-ATR realizados aos aerogéis [2% κ -car]:[KCl] e [2% κ -car]:[KSCN] e por comparação com κ -car puro, verifica-se que os aerogéis obtidos possuem os picos característicos deste.

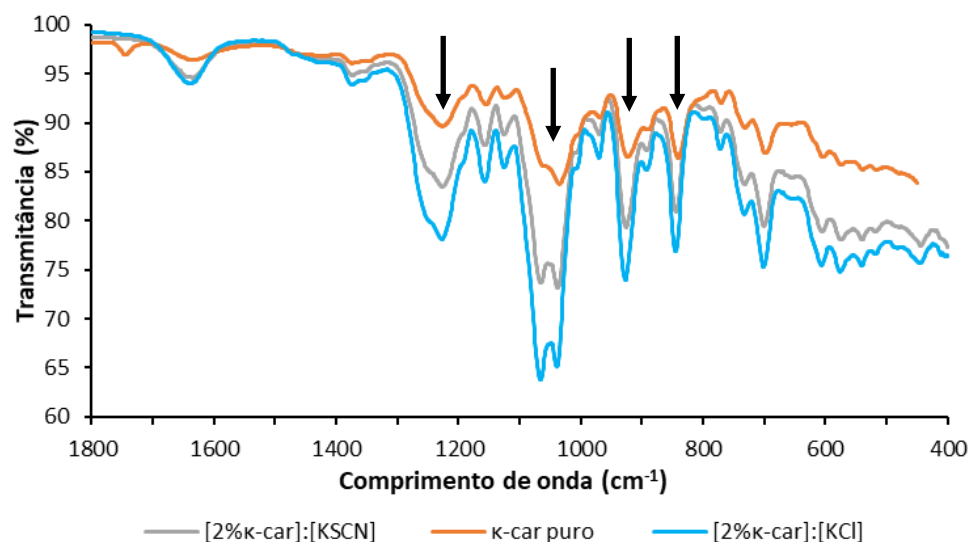


Figura 3.26 - Espectro de FTIR dos aerogéis [2% κ -car]:[KCl] e [2% κ -car]:[KSCN], em comparação com κ -car puro.

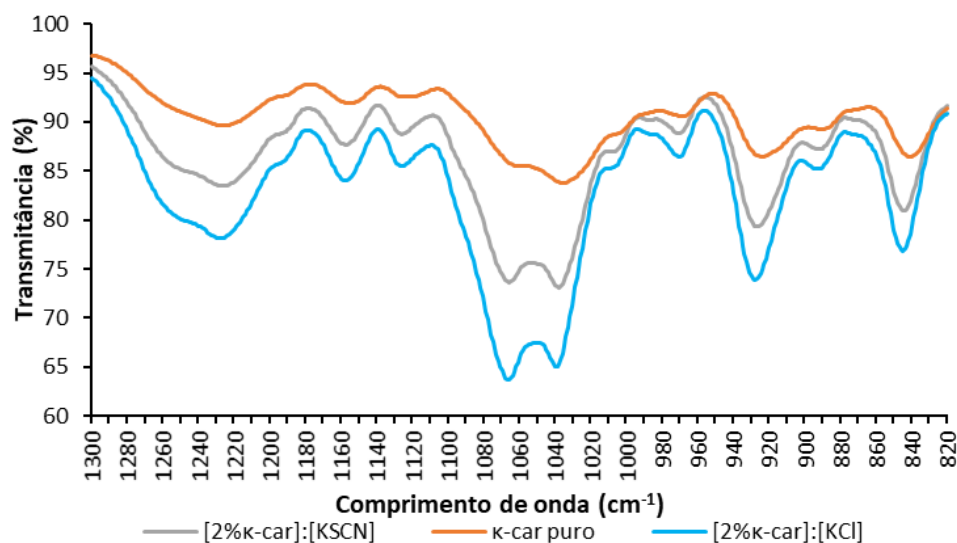


Figura 3.27 - Espectro de FTIR dos aerogéis [2%κ-car]:[KCl] e [2%κ-car]:[KSCN], em comparação com κ-car puro (1300 cm⁻¹ a 820 cm⁻¹).

Nas Figuras 3.28-3.29 encontram-se representados os espectros de FTIR-ATR para o aerogel [2%κ-car]:[bmim][Ac] em comparação com o LI [bmim][Ac] e com o κ-car puro.

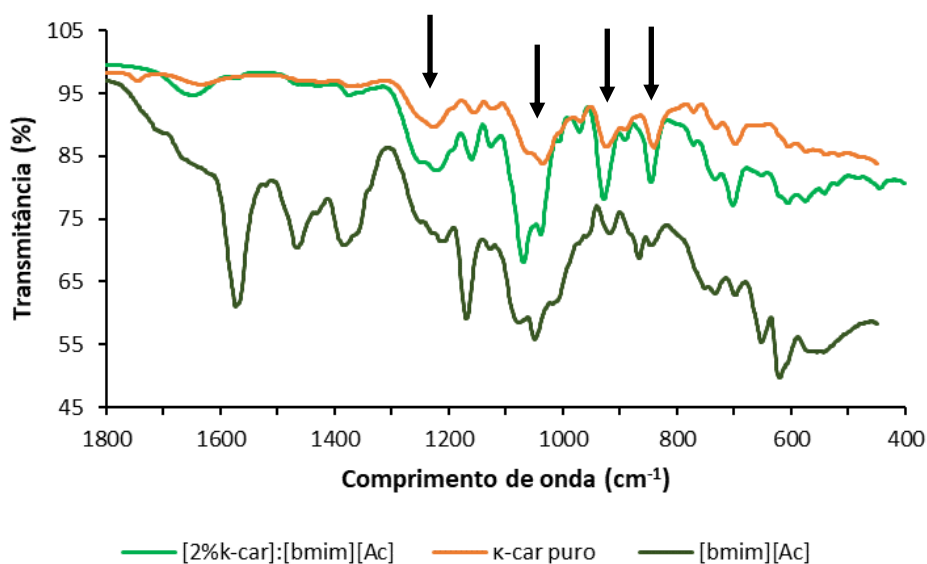


Figura 3.28 - Espectros de FTIR do aerogel de [2%κ-car]:[bmim][Ac], em comparação com κ-car puro e com o [bmim][Ac].

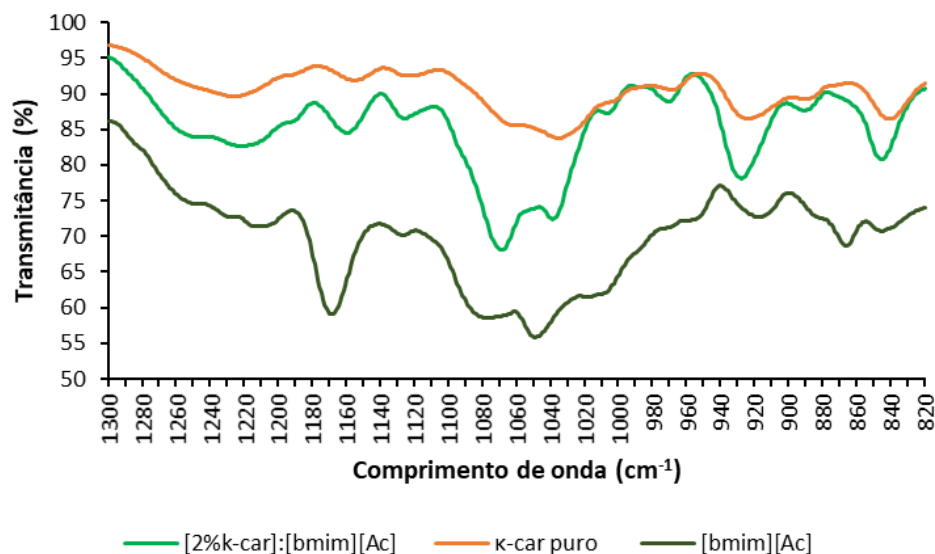


Figura 3.29 - Espectros de FTIR do aerogel de [2%κ-car]:[bmim][Ac], em comparação com κ-car puro e com o [bmim][Ac] (1300 cm⁻¹ a 820 cm⁻¹).

Analisando as Figuras 3.28 e 3.29 verifica-se que o aerogel [2%κ-car]:[bmim][Ac] contem bandas características do κ-car puro. Dado a sobreposição de bandas do LI e do κ-car não é possível perceber sobre a possível presença de LI no interior da matriz.

Os resultados obtidos para o aerogel [2%κ-car]:[bmim][Cl] encontram-se representados nas Figuras 3.30-3.31. As bandas do aerogel são as características do κ-car puro e não são visíveis bandas características do LI [bmim][Cl] pelo que é provável ter ocorrido remoção completa do LI do interior da matriz.

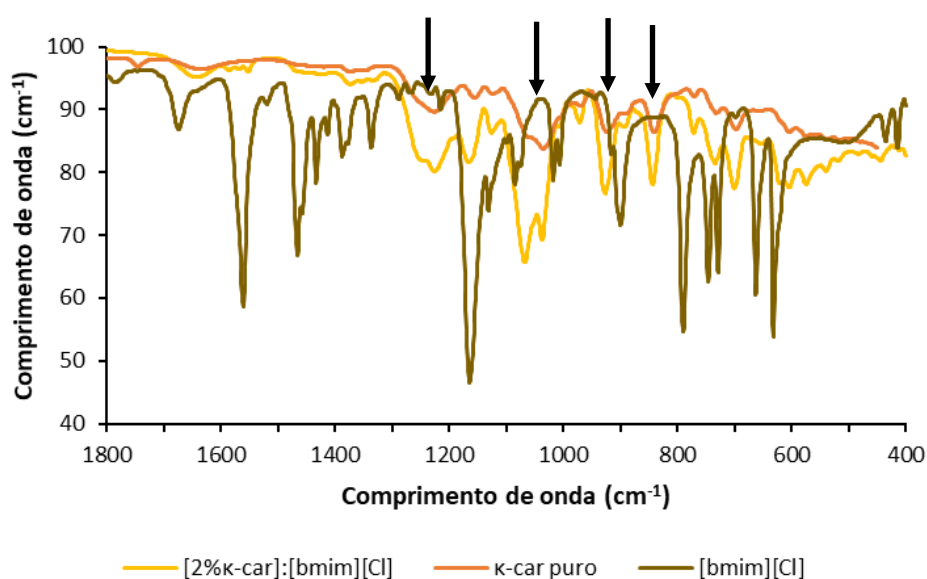


Figura 3.30 - Espectros de FTIR do aerogel de [2%κ-car]:[bmim][Cl], em comparação com κ-car puro e com o [bmim][Cl].

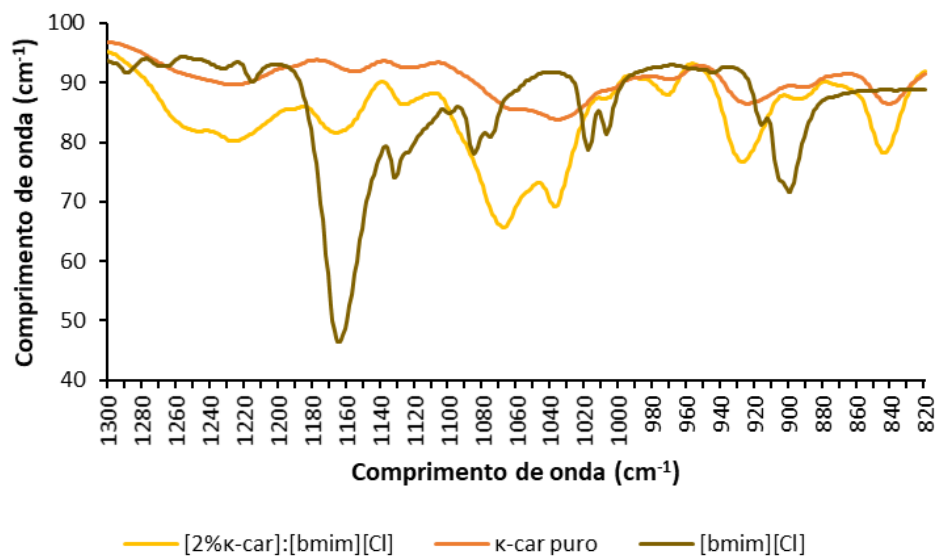


Figura 3.31 - Espectros de FTIR do aerogel de [2%κ-car]:[bmim][Cl], em comparação com κ-car puro e com o [bmim][Cl] (1300 cm⁻¹ a 820 cm⁻¹).

3.4.2.4. Análise termogravimétrica (TGA)

Na Figura 3.32 encontram-se representadas as curvas obtidas por análise termogravimétrica para as diferentes amostras de aerogel assim como para o κ-car puro.

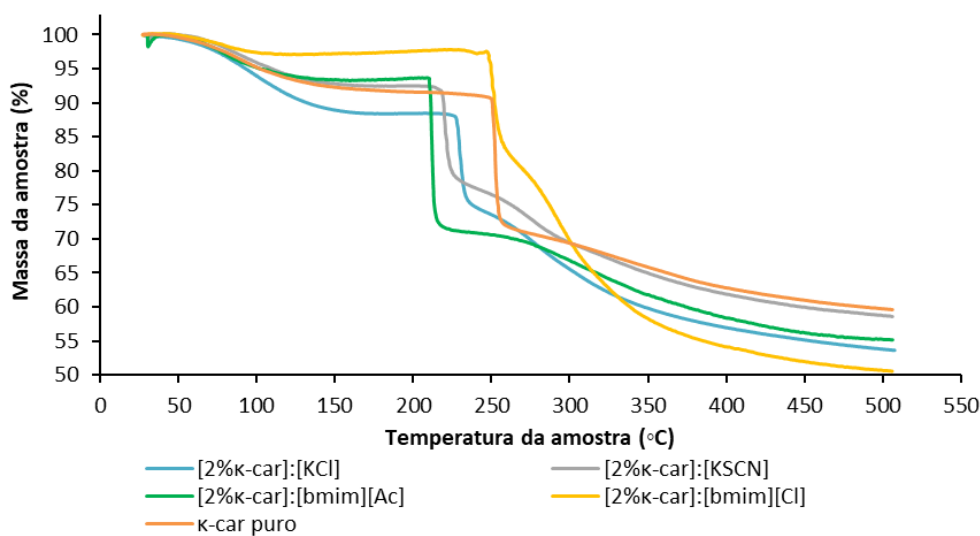


Figura 3.32 - Gráfico dos resultados obtidos por TGA para os 4 aerogéis κ-car obtidos e para o κ-car puro.

Analisando a curva referente ao κ -car puro (Figura 3.32), verifica-se a existência de três patamares, o primeiro patamar inicia-se por volta dos 30°C e termina antes dos 200°C e corresponde à perda de água presente no κ -car. O segundo patamar mais ou menos entre os 200 e 300°C é quando começa a decomposição propriamente dita do κ -car, registando uma percentagem de massa perdida mais acentuada por volta dos 250°C, que corresponde à fragmentação das cadeias poliméricas e à libertação do enxofre. A decomposição continua no terceiro patamar que se inicia por volta dos 300°C e termina por volta dos 500°C, com a amostra a pesar menos cerca de 40% da sua massa inicial. Em Sofia Soares et al. [160] o κ -car puro começa a decompôr-se aos 200°C tendo uma decomposição mais evidente aos 230°C, sendo uma temperatura inferior ao obtido neste trabalho (250°C) esta diferença pode ser devida, a diferenças estruturais no polímero κ -car utilizado.

À semelhança do que acontece no κ -car puro, os aerogéis obtidos apresentam os três patamares, no entanto em três dos aerogéis de κ -car, nomeadamente [2% κ -car]:[KCl], [2% κ -car]:[KSCN] e [2% κ -car]:[bmim][Ac] os patamares ocorrem a temperaturas mais baixas, sendo evidente que a temperatura a que ocorre uma decomposição mais acentuada é antecipada em relação à que ocorre no κ -car puro. A maior facilidade, apresentada por estes aerogéis de κ -car em decomporem-se, pode dever-se ao facto do κ -car já ter sido submetido a temperaturas superiores a 70°C no decorrer da síntese dos géis (dissolução do κ -car nos solventes (sais e LIs)), o que pode ter conduzido a uma fragilidade na estrutura do carragenano facilitando de certo modo a decomposição do mesmo. O aerogel [2% κ -car]:[bmim][Cl] é uma exceção, de alguma forma a estrutura porosa da matriz formada é menos suscetível à degradação, iniciando a decomposição a uma temperatura semelhante à do κ -puro.

No final da análise, os aerogéis sintetizados tinham registado uma maior percentagem de perda de massa em comparação com o κ -car puro, não sendo essa diferença muito significativa.

3.4.2.5. Calorimetria diferencial de varrimento (DSC)

Realizou-se DSC aos aerogéis de κ -car com adição de sais e com adição de LIs.

No Anexo 6.7 Figuras 6.24 encontram-se os termogramas obtidos por DSC referentes aos vários LIs usados na dissolução do κ -car e ao próprio κ -car puro.

Na Figura 3.33 são apresentados os termogramas obtidos por DSC para as 4 amostras de aerogéis [2% κ -car]:[KCl], [2% κ -car]:[KSCN], [2% κ -car]:[bmim][Ac] e [2% κ -car]:[bmim][Cl].

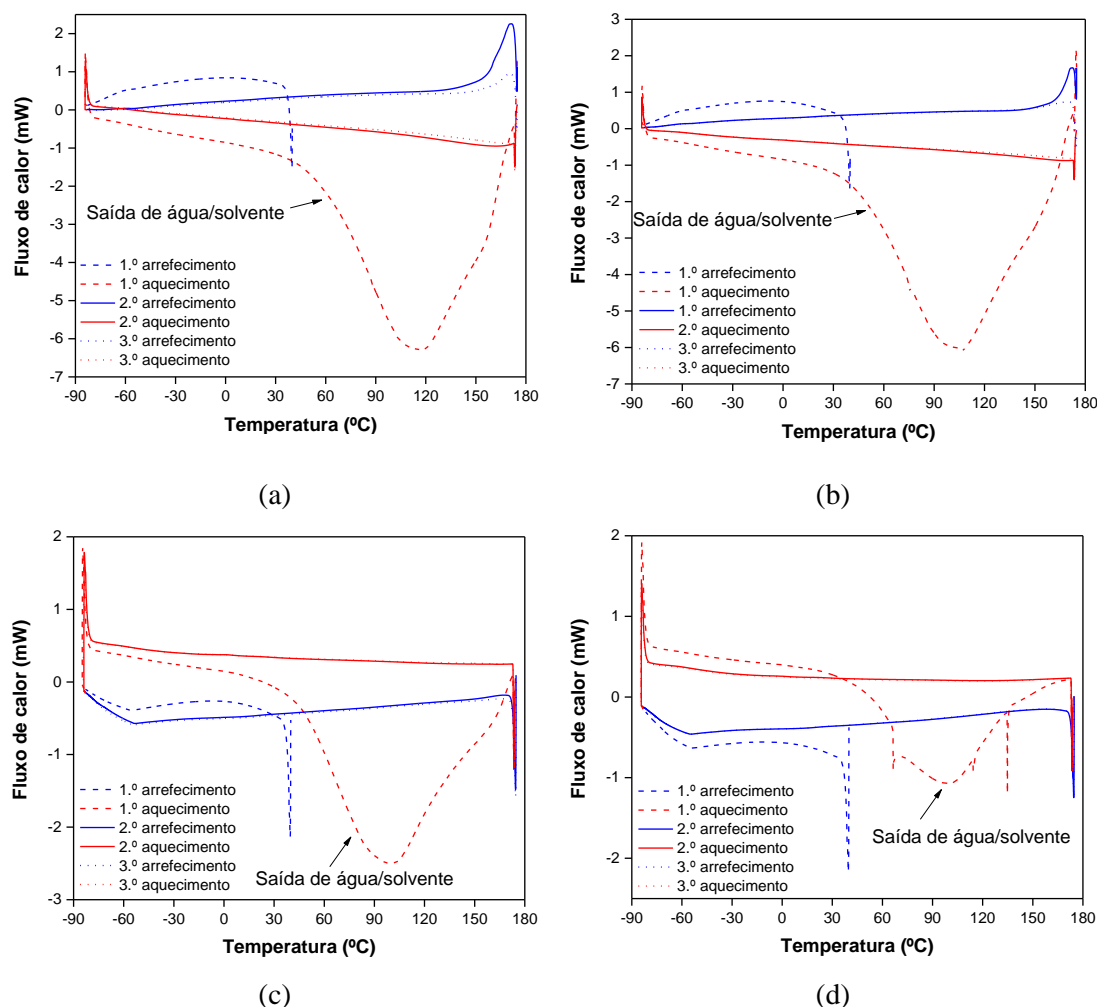


Figura 3.33 - Termogramas obtidos para os aerogéis: (a) - [2% κ -car]:[KCl]; (b) - [2% κ -car]:[KSCN]; (c) - [2% κ -car]:[bmim][Ac]; (d) - [2% κ -car]:[bmim][Cl].

As amostras [2% κ -car]:[KCl] e [2% κ -car]:[KSCN], apresentam termogramas semelhantes entre si e similares ao termograma do κ -car puro. O 1.º ciclo de aquecimento apresenta um pico relativo à perda de água não se observando mais nenhuma ocorrência relevante nos restantes ciclos de aquecimento ou arrefecimento.

Nos termogramas obtidos para as amostras [2% κ -car]:[bmim][Ac] e [2% κ -car]:[bmim][Cl] não é, contudo, possível observar a presença ou não de picos de decomposição dos LIs visíveis nos termogramas dos LIs em Anexo 6.7 Figura 6.24 porque a análise de DSC foi realizada a uma temperatura inferior. Contudo os termogramas das amostras não revelam a descontinuidade associada à T_g dos respetivos LIs, visíveis nos termogramas destes a cerca de -40°C (Anexo 6.7 Figuras 6.26 e 6.27) pelo que é de prever que não exista LI na amostra.

Pelas suas características texturais e pela ausência de contaminação por LIs determinada, as amostras preparadas são consideradas adequadas para aplicações com fins farmacêuticos tais como a impregnação e distribuição de fármacos. De seguida serão apresentados resultados para

ensaios de liberação de dois fármacos distintos nas duas das matrizes aerogel produzidas com maior área BET.

3.5. Análise da liberação de fármacos

Para o estudo da liberação de fármacos foram utilizadas as duas matrizes com maior área superficial, [2%κ-car]:[KCl] e [2%κ-car]:[bmim][Ac] numa tentativa de otimizar a impregnação do fármaco na matriz. Em cada uma das matrizes foram impregnadas teofilina ([2%κ-car]:[KCl]_{tf} e [2%κ-car]:[bmim][Ac]_{tf}) ou tetraciclina ([2%κ-car]:[KCl]_{tc} e [2%κ-car]:[bmim][Ac]_{tc}) por introdução das matrizes em soluções de etanol saturadas em cada fármaco. No caso da teofilina foi feita em paralelo uma tentativa de impregnação com scCO₂ na amostra [2%κ-car]:[bmim][Ac] ([2%κ-car]:[bmim][Ac]_{tfscCO2}).

Foram realizados dois ensaios de liberação para cada aerogel, com exceção no ensaio da amostra [2%κ-car]:[bmim][Ac]_{tc} para o qual foram realizados três ensaios. Os ensaios foram realizados a pH e temperatura controlada de forma a simular a absorção a nível do intestino (pH=7.4 (confirmar) e T=37°C)

A concentração de fármaco libertado ao longo do tempo para a solução tampão foi calculada com recurso a retas de calibração que se encontram no Anexo 6.9 – Figuras 6.29-6.30. Para o cálculo da percentagem de dissolução (valor cumulativo) utilizou-se a seguinte expressão:

$$\% \text{ de dissolução (cumulativo)} = \frac{C(t)}{C_f} \times 100\%$$

Onde C(t) é a concentração de fármaco no meio de dissolução no instante t e C_f é a concentração final de fármaco no meio de dissolução.

3.5.1. Ensaios de liberação da teofilina

Na Tabela seguinte (Tabela 3.11) apresentam-se os valores determinados para a quantidade média de teofilina impregnada por grama de aerogel, para as duas matrizes de aerogel utilizadas. A determinação do total foi efetuada como explicado no capítulo 2.4.2.1. As retas de calibração que permitiram o cálculo da concentração total de teofilina libertada para a solução de etanol, encontram-se no Anexo 6.10 – Figura 6.31.

Tabela 3.11 - Quantidade total (média) de teofilina impregnada por grama de aerogel.

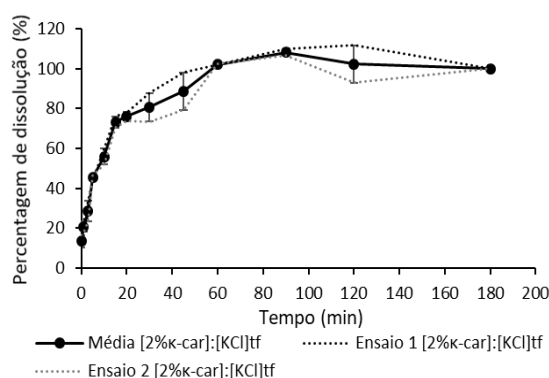
Teofilina		
Compósito	Q _{médio} (mg/g)	Q _{médio} (mol/g)
[2%κ-car]:[KCl] _{tf}	10,92 ¹	0,06059
[2%κ-car]:[bmim][Ac] _{tf}	21,28 ¹	0,1181
[2%κ-car]:[bmim][Ac] _{tfscCO2}	15,16 ¹	0,08413

Nota: ¹ Média referente a 2 ensaios.

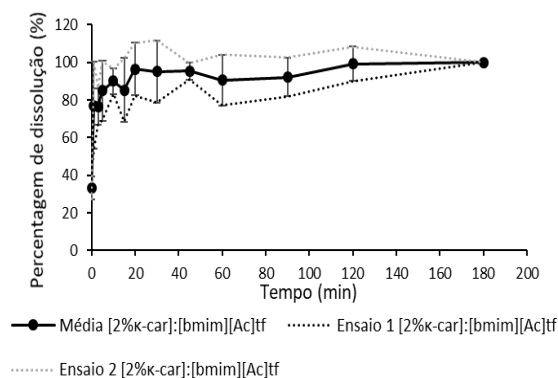
De acordo com o apresentado na Tabela 3.11 foi impregnada uma maior quantidade de fármaco nas amostras compósito baseadas na matriz do aerogel [2%κ-car]:[bmim][Ac] que, segundo as imagens de SEM (Figura 3.24 (c)).evidencia uma maior macroporosidade. A entrada do fármaco poderá ter sido facilitada numa estrutura de poros mais aberta.

A dose de manutenção de teofilina administrada a um paciente adulto asmático é de 10 mg/Kg/dia [161]. Tendo em conta este valor, para um adulto de 70 kg necessitaríamos de uma grande quantidade de matriz (aproximadamente 35 g tendo por base o valor impregnado na amostra compósito [2%κ-car]:[bmim][Ac]_{tf}) de forma a perfazer a dose diária de 700 mg do fármaco.

Na Figura 3.34 ((a) a (c)) encontram-se ilustrados os perfis de dissolução da teofilina para as amostras [2%κ-car]:[KCl]_{tf}, [2%κ-car]:[bmim][Ac]_{tf} e [2%κ-car]:[bmim][Ac]_{tfscCO2}.



(a)



(b)

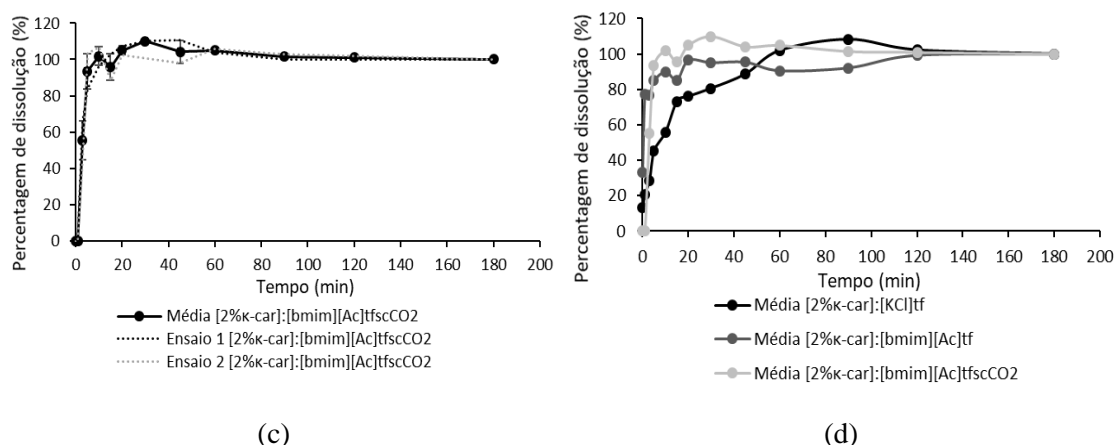


Figura 3.34 - Perfis de dissolução da teofilina para as amostras (valores calculados utilizando o valor de fármaco total libertado no final de cada ensaio) (a) [2%κ-car]:[KCl]_{tf} e (b) [2%κ-car]:[bmim][Ac]_{tf}; (c) [2%κ-car]:[bmim][Ac]_{tfscCO2} ao longo do tempo (1º, 2º ensaio e média); (d) Perfil de dissolução (valor médio) da teofilina em matrizes de κ-car.

Analisando os perfis de liberação de teofilina para as diferentes amostras, verifica-se que a liberação do fármaco se inicia instantaneamente quando o compósito é colocado na solução tampão para as amostras [2%κ-car]:[KCl]_{tf} e [2%κ-car]:[bmim][Ac]_{tf}, mas apenas após 3 minutos para a amostra [2%κ-car]:[bmim][Ac]_{tfscCO2}. A quantidade de fármaco libertada inicialmente (valor médio obtido a partir da curva de dissolução apresentada na Figura 3.34 (d) para cada um dos casos foi 12% para a amostra [2%κ-car]:[KCl]_{tf}, 33% para [2%κ-car]:[bmim][Ac]_{tf}, e 55% (apenas ao fim dos 3 min) para a amostra [2%κ-car]:[bmim][Ac]_{tfscCO2}. A elevada quantidade de teofilina libertada nos primeiros instantes (*burst release* [162]) para as amostras [2%κ-car]:[bmim][Ac]_{tf} e [2%κ-car]:[bmim][Ac]_{tfscCO2} poderá dever-se à macroporosidade da matriz aerogel ([2%κ-car]:[bmim][Ac]). De acordo com as imagens SEM apresentadas na Figura 3.24 (c) a estrutura de poros mais aberta para esta matriz quando comparada com a do aerogel [2%κ-car]:[KCl] poderá facilitar a saída do fármaco para a solução (à semelhança do proposto atrás no processo de impregnação). Por outro lado, o retardamento na liberação do fármaco observado na amostra compósito [2%κ-car]:[bmim][Ac]_{tfscCO2} poderá dever-se a uma impregnação mais efetiva, i.e., o scCO₂ poderá ter transportado o fármaco mais para o interior da amostra ou para o interior de poros de menores dimensões, dificultando desta forma o processo de difusão do fármaco através da matriz para a solução.

Na amostra [2%κ-car]:[KCl]_{tf}, a liberação do fármaco estabiliza após os 60 min pelo que se considerou que 100% da teofilina foi libertada ao fim deste tempo. Nas amostras compósito [2%κ-car]:[bmim][Ac]_{tf} e [2%κ-car]:[bmim][Ac]_{tfscCO2} a estabilização ocorre logo após 10-20 min. Embora os 100% de liberação no aerogel [2%κ-car]:[bmim][Ac]_{tf}, só tenha acontecido ao fim de 120 minutos, a percentagem de teofilina libertada ao fim de 10 minutos foi

de 90. A velocidade de liberação para a teofilina na amostra $[2\% \kappa\text{-car}]:[\text{KCl}]_{\text{tf}}$ é assim inferior à observada nas amostras $[2\% \kappa\text{-car}]:[\text{bmim}][\text{Ac}]_{\text{tf}}$ e $[2\% \kappa\text{-car}]:[\text{bmim}][\text{Ac}]_{\text{tfscCO}_2}$. Tal como o justificado na liberação inicial, a macroporosidade da amostra poderá estar na origem deste comportamento. Ao fim de 180 minutos de liberação, por se ter atingido tão precocemente os 100% de liberação, o ensaio foi dado por terminado.

A impregnação de teofilina, por scCO_2 no aerogel $[2\% \kappa\text{-car}]:[\text{bmim}][\text{Ac}]$, não trouxe melhorias significativas ao comportamento da amostra compósito no que liberação do fármaco diz respeito. Apesar de se ter conseguido retardar a liberação inicial, a liberação total ocorreu no mesmo período observado para a amostra $[2\% \kappa\text{-car}]:[\text{bmim}][\text{Ac}]_{\text{tf}}$. Além disso a quantidade de fármaco retido na amostra por impregnação com scCO_2 foi ligeiramente inferior à conseguida por imersão em solução saturada.

Seria interessante averiguar se a impregnação supercrítica poderia trazer algum tipo de vantagem à liberação de teofilina a partir do aerogel de KCl e a otimização da impregnação destas amostras de forma a aumentar a quantidade de fármaco impregnada por massa de matriz de $\kappa\text{-car}$.

A teofilina, como referenciado atrás, é um fármaco bastante utilizado em estudos de liberação, os exemplos seguintes centram-se apenas na impregnação do fármaco em polímeros naturais.

A liberação rápida da teofilina neste trabalho também foi verificada em vários estudos. Pornsak Sriamornsak et al. [163] impregnaram a teofilina num hidrogel de celulose microcristalina, obtendo uma liberação de 70%-90% da teofilina em 30 minutos. O retardamento do processo de liberação foi conseguido quando revestiram o gel com pectinato de cálcio, 80% da teofilina libertou-se ao fim de 2 horas (núcleos pequenos) ou 4 horas (núcleos grandes). Kotoe Machida Ohta et al. [138] sintetizou géis de sílica em que 100% da teofilina foi libertada em cerca de 30 minutos, quando revestiu os géis (com hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) e uma dispersão aquosa de etilcelulose), o tempo de liberação total aumentou para os 300 minutos num dos casos em estudo. Chithambara Thanoo et al. [164] sintetizaram microesferas de quitosano, onde impregnaram teofilina e outros fármacos, sendo a teofilina o fármaco que se libertou mais rapidamente e atingindo quase os 100% de liberação em pouco mais de 1 hora. Hisao Tomida et al. [134] com o objetivo de retardar a liberação da teofilina a partir de géis de $\kappa\text{-car}$ que foi de 100% de liberação em menos de 30 minutos, sintetizaram um complexo polieletrólito de $\kappa\text{-car}$ com quitosano, em que quanto maior a concentração de quitosano mais a liberação era retardada (com apenas 0,10% de quitosano a liberação total foi atingida somente 3-4 horas desde o início da liberação e com 1,5% de quitosano a liberação de ordem zero é alcançada). Jianhong Liu et al. [165] utilizaram gelatina, ágar, $\kappa\text{-car}$ e misturas entre eles para impregnar teofilina, assim, individualmente, todos eles permitiram que a teofilina se libertasse rapidamente. No $\kappa\text{-car}$

100% da libertação ocorreu por volta dos 30 minutos, quando o κ -car é misturado em igual quantidade com ágar, o máximo de teofilina libertada (cerca de 95%) é atingida entre os 75-90 minutos, já quando a mistura (50/50%) de κ -car com gelatina, o máximo de teofilina libertada (próximo de 100%) é atingida por volta dos 50-60 minutos.

No entanto existem outros autores que conseguiram obter bons resultados utilizando diversos polímeros para a libertação de teofilina. Masahiro Nakano et al. [166] investigaram a libertação da teofilina a partir de vários polímeros naturais, entre os quais o carragenano e a goma de alfarroba. A utilização de uma mistura entre os dois polímeros trouxe melhorias à libertação da teofilina em relação à que foi impregnada apenas em carragenano, passou de 5 horas para 6 horas até se atingir os 100% de libertação. Vishal K. Gupta et al. [167] impregnaram teofilina num gel sintetizado a partir de ι -car, λ -car e também celulose microcristalina onde obtiveram 70% de libertação da teofilina ao fim de 8 horas (meio intestinal). Katharina M. Picker [168] estudou a libertação de teofilina e de diclofenac de sódio a partir de géis de dois tipos de κ -car, um tipo de ι -car e de HPMC (hidroxipropilmetilcelulose), os tipos de κ -car foram os que permitiram uma libertação mais rápida, mas mesmo assim demorou 300-450 minutos até que o máximo de teofilina tenha sido libertada, não se registando diferenças muito significativas para o outro fármaco. Anja Veronovski et al. [169] sintetizaram aerogéis de pectina cítrica e pectina de maçã para o estudo da libertação de teofilina e ácido nicotínico (a impregnação foi realizada aquando da formação do hidrogel). Os aerogéis eram formados por multimembranas onde o espaço entre o núcleo e a membrana ou entre cada camada de membrana era também preenchido por fármaco. A teofilina libertou-se ligeiramente mais devagar que o outro fármaco em estudo. No caso da teofilina impregnada em pectina cítrica ao fim de 3 horas cerca de 80% tinha sido libertada, para o outro tipo de pectina, no mesmo tempo foi libertado cerca de 90% de teofilina para o meio de dissolução. Veronovski et al. [170] investigaram também a libertação dos mesmos fármacos, mas desta vez com aerogéis de alginato, concluindo que quanto maior o número de membranas mais lenta era a libertação, num dos aerogéis estudados, ao fim de 7 horas apenas 60% de teofilina tinha se libertado, noutros os quase 100% de libertação eram atingidos por volta das 7 horas. Nery L. Rosario et al. [171] estudaram a libertação de teofilina a partir de géis de carragenano, variando certos parâmetros, como a concentração de carragenano. De uma forma geral ao fim de 360 minutos, 80%-100% da teofilina tinha sido libertada e os géis de maior concentração em carragenano controlavam ligeiramente melhor a libertação.

Pelo que acima foi descrito, um aumento da capacidade de impregnação dos aerogéis produzidos assim como o prolongamento da libertação do fármaco poderá ser conseguido por exemplo, por modificações da matriz polimérica através da funcionalização ou por mistura com outros polímeros. A utilização do λ -car com maior número de grupos funcionais ($-\text{SO}_3^-$) por

unidade polimérica poderá também influenciar a impregnação e libertação para fármacos com afinidade para estes grupos.

3.5.2. Ensaios de libertação da tetraciclina

Na Tabela 3.12 encontra-se a quantidade média total de tetraciclina que foi possível impregnar por grama de aerogel, para os diferentes aerogéis utilizados.

Tabela 3.12 - Quantidade total (média) de tetraciclina impregnada por grama de aerogel.

Tetraciclina		
Aerogel	Q _{médio} (mg/g)	Q _{médio} (mol/g)
[2% κ -car]:[KCl] _{tc}	84,21 ¹	0,1751
[2% κ -car]:[bmim][Ac] _{tc}	144,8 ²	0,3011

Nota: ¹ Média referente a dois ensaios de libertação; ² Média referente a três ensaios de libertação.

A quantidade de tetraciclina que foi possível impregnar nas duas matrizes de aerogel difere substancialmente sendo maior para a amostra [2% κ -car]: [bmim][Ac]_{tc} à semelhança do ocorrido para a teofilina. Uma vez mais este facto poderá estar relacionado com a estrutura de poros mais aberta facilitando desta forma a entrada do fármaco. Comparativamente à impregnação da teofilina a quantidade de tetraciclina impregnada (mol/g) é superior, pelo que a afinidade desta molécula para as matrizes de κ -car poderá ser superior.

A tetraciclina é usada no tratamento de várias infeções bacterianas. A dose prescrita a um adulto com pneumonia é em geral 500 mg a cada 6 horas [172]. De acordo com os dados obtidos seriam necessários mais de 3 g da matriz de aerogel [2% κ -car]: [bmim][Ac]. Tendo em conta que a densidade deste tipo de materiais é baixa seria necessário um volume considerável de amostra na formulação de uma dose constituída por 500 mg.

Na Figura 3.35 (a) e (b) encontram-se ilustrados os perfis de dissolução da tetraciclina para as amostras [2% κ -car]:[KCl]_{tc} e [2% κ -car]:[bmim][Ac]_{tc}.

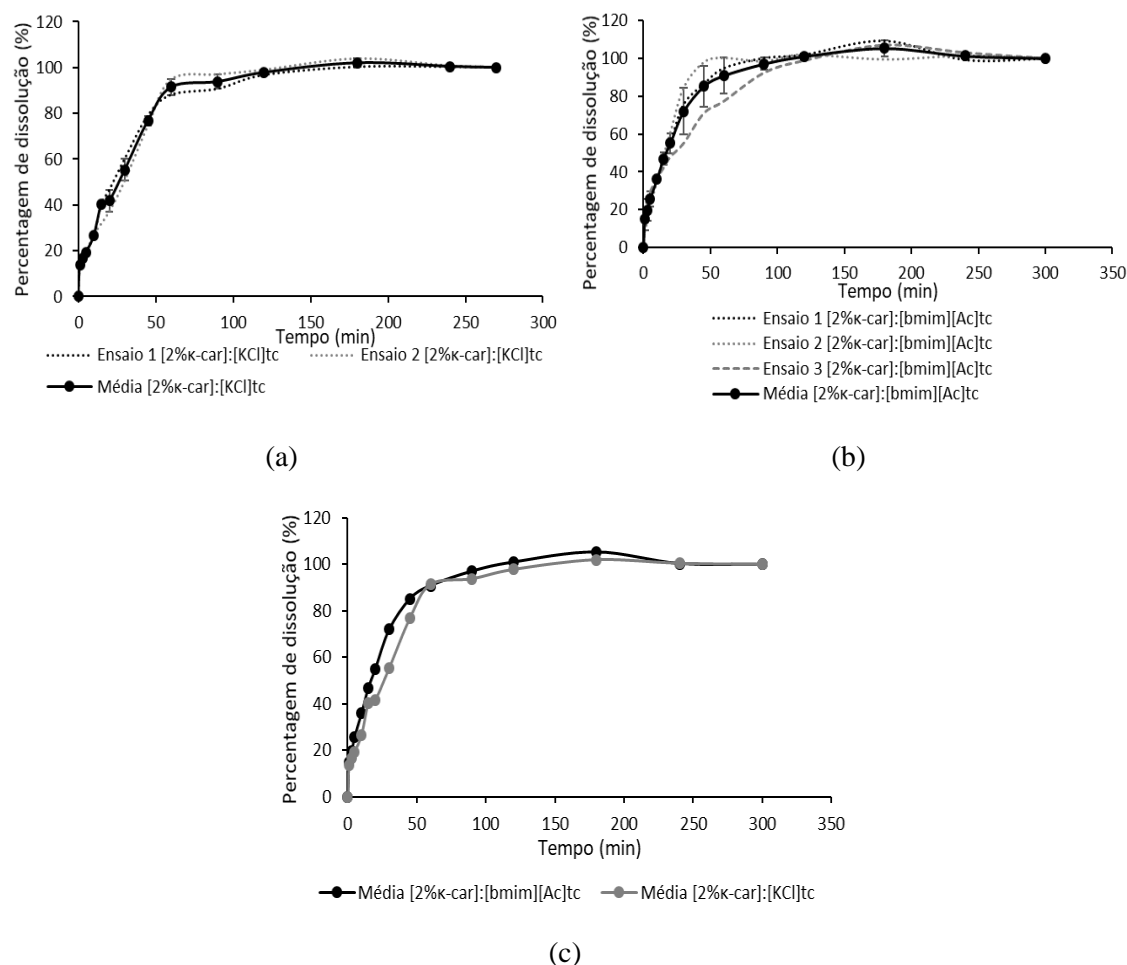


Figura 3.35 - Perfis de dissolução da tetraciclina para as amostras (valores calculados utilizando o valor de fármaco total libertado no final de cada ensaio) (a) [2%κ-car]:[KCl]_{tc} ao longo do tempo (1º, 2º ensaio e média); (b) [2%κ-car]:[bmim][Ac]_{tc} ao longo do tempo (1º, 2º e 3º ensaio e média); (c) Perfil de dissolução (valor médio) da tetraciclina em matrizes de κ-car.

A quantidade de tetraciclina libertada após 1 minuto é em média de 14% e 15% para as amostras [2%κ-car]:[KCl]_{tc} e [2%κ-car]:[bmim][Ac]_{tc}, respectivamente.

Em ambas as amostras compósito [2%κ-car]:[KCl]_{tc} e [2%κ-car]:[bmim][Ac]_{tc} a libertação da tetraciclina maximizou (100%) ao fim de 180 min e 120min, respectivamente, tendo-se mantido estável até ao final das medições (300 min). Ao contrário das amostras impregnadas com teofilina, estas amostras deixaram de ser visíveis no meio de dissolução a partir dos 60 min pelo que é de prever que a erosão/degradação das amostras tenha ocorrido em alguma extensão. A partir dos 60 min foi observado também um abrandamento na libertação do fármaco. Não foram observadas diferenças significativas para o perfil de libertação para as duas amostras.

Um maior valor para a quantidade de fármaco libertada inicialmente, no caso da teofilina, por comparação aos valores obtidos para a tetraciclina poderá estar relacionado com o menor peso molecular do primeiro fármaco. Segundo Xiao Huang e Christopher S. Brazel [162], a libertação

de fármacos de baixo peso molecular, possui maior tendência para sofrer um *burst release* (peso molecular da teofilina :180,17g/mol, e peso molecular da tetraciclina: 480,90g/mol).

Uma liberação do fármaco de forma mais prolongada para os sistemas contendo a tetraciclina poderá ser atribuída à maior afinidade deste fármaco com a matriz. O elevado número de grupos -OH e os grupos aminas na molécula de tetraciclina poderão estabelecer uma boa interação com os grupos funcionais do carragenano, -COOH e SO_3^- e consequentemente facilitar a impregnação da amostra e libertando mais demoradamente o fármaco.

Em relação aos tempos de liberação da tetraciclina verificados neste trabalho, ficam muito a quem dos resultados obtidos por outros autores. Gracy Karla da R. Cortes et al. [141] produziram membranas constituídas por quitosano e escamas de peixe que permitiram que a liberação de tetraciclina ocorresse durante vários dias (6-7dias), até atingir um máximo na liberação, que foi de 45-50% ou 55%-60% dependendo da membrana. Outros autores impregnaram a tetraciclina em diferentes polímeros naturais em que a liberação decorreu por vários dias. Alguns exemplos são Suwei Jiang et al. [173] com quitosano (ao fim de 120 horas os 100% de teofilina libertada ainda não tinham sido atingidos), Mehrez E. El-Naggar et al. [174] com goma curdlana (25 horas 100% de tetraciclina libertada), S. Maya et al. [175] com O-carboximetil-quitosano (24 horas 42% e 60 horas 62% de tetraciclina libertada). Gilberto Goissis et al. [142] impregnaram a tetraciclina em membranas de colagénio aniónico obtendo um *burst release* para as membranas produzidas a pH 7,4, onde depois a quantidade de tetraciclina no meio de dissolução se mantem quase constante (ao fim de 3 horas, 84,5% de tetraciclina foi libertada). S. Govender et al. [176] sintetizaram vários tipos de matrizes utilizando o quitosano como polímero, para a impregnação da tetraciclina e ao fim de 8 horas de liberação nenhuma delas tinha ultrapassado os 50% de liberação. Wei Shao et al. [177] impregnaram a tetraciclina após a formação dos géis de celulose bacteriana, seguida de uma liofilização destes e onde a influência da quantidade de teofilina impregnada foi estudada. Na membrana com maior quantidade de teofilina impregnada, obteve-se o máximo da sua liberação (cerca de 80%) ao fim de 2 horas.

Não foi possível encontrar artigos onde a tetraciclina é impregnada em géis de carragenano, pelo que não foi possível estabelecer comparação com matrizes com a mesma constituição.

Neste trabalho, a degradação dos aerogéis de κ -car, onde a tetraciclina se encontrava impregnada pode ter levado a uma liberação antecipada da mesma. Suwei Jiang et al. referenciam que a tetraciclina promove a degradação dos géis de quitosano/PLA, uma vez que podia destruir as ligações de hidrogénio, no entanto a degradação que registaram demorou dias [173]. Assim sendo seria importante no futuro, investigar a degradação/erosão dos aerogéis de κ -car e a sua influência na liberação dos fármacos impregnados. Também como trabalho futuro

seria importante otimizar as matrizes no sentido de melhorar a capacidade de impregnação e os tempos de libertação. Para tal, como referido anteriormente a funcionalização ou mistura com outros materiais poderia propiciar matrizes mais robustas e resistentes à degradação e consequentemente resultados melhorados.

Vários autores, acima referenciados, estudaram a influência do pH do meio de dissolução na libertação do fármaco, em alguns casos a libertação não sofria alterações entre um pH neutro (intestino) e um pH ácido (estômago), noutras era evidente as diferenças na libertação. O carragenano é um polímero iónico e, portanto, a sua estrutura sofre alterações com o valor de pH. A tetraciclina também ela é bastante influenciada pelo pH do meio. Logo seria, importante a realização de estudos sobre a libertação dos fármacos em estudo, a diferentes pHs, em especial num pH ácido, simulando a libertação no estômago. A pHs baixos as ligações por pontes de hidrogénio no carragenano podem ser destruídas porque a protonação dos grupos -COO^- ocorre, fragilizando desta forma a estrutura reticular do gel. Assim sendo será de esperar que a ocorrência de degradação/erosão da matriz constituída unicamente por carragenano seja ainda mais evidente a pH ácido. Esta degradação provoca uma libertação antecipada do fármaco, portanto a síntese de aerogéis de κ -car, híbridos ou revestidos com outro polímero, como um polímero menos solúvel em meio neutro (como o quitosano [178]) poderia ser vantajoso para a retardação na libertação. O facto de os aerogéis estarem revestidos por outro polímero, torna a libertação do fármaco impregnado mais lenta, uma vez que o “caminho” que este tem de percorrer, do núcleo até à superfície do comprimido e atravessando todo o revestimento, é maior.

O estudo da libertação de outro fármaco de maior peso molecular e de boa afinidade com os grupos -SO_3^- do carragenano, poderia ser uma mais valia para a continuação deste estudo, uma vez que é bastante notória a melhoria na libertação da tetraciclina comparativamente com a da teofilina.

3.5.3. Modelos cinéticos

Após a conclusão dos ensaios de liberação e com o intuito de averiguar qual cinética se adequava mais aos perfis de liberação obtidos, procedeu-se ao estudo da cinética de liberação.

Um perfil de liberação que obedeça a uma cinética de ordem zero seria o ideal, não dependeria da quantidade de fármaco impregnado e a concentração do fármaco no organismo manter-se-ia constante durante o tempo a que a liberação acontece. Existem vários tipos de fármacos, cujo o perfil de liberação, seria bastante importante que obedecesse a este modelo, como é o exemplo dos antibióticos e dos medicamentos para a tensão arterial, pois devem permanecer no organismo com uma concentração constante durante um certo período. [70]

Assumindo que os perfis de liberação de fármacos obtidos com os vários aerogéis obedeciam ao modelo ideal calculou-se a velocidade de liberação linear pelo ajuste do modelo de ordem zero à parte inicial do perfil de liberação. Estes valores, bem como a percentagem final de fármaco libertado e o tempo que foi necessário para atingir os 100% de liberação, encontram-se indicados na Tabela 3.13.

Tabela 3.13 - Valores referentes à liberação linear (Taxa, Percentagem e R^2), Percentagem final de liberação e tempo decorrido até os 100% de liberação da Teofilina e da Tetraciclina.

Amostra	Taxa de liberação linear (%/min)	Taxa de liberação linear (mg/min)	Percentagem na liberação linear (%)	R^2	Percentagem final de liberação (%)	Tempo de 100% de liberação (min)
[2%κ-car]:[bmim][Ac] _{tf} ¹	4,1	0,0049	90	0,513	100	120
[2%κ-car]:[bmim][Ac] _{tfscCO2} ¹	10,3	0,0081	100	0,734	100	20
[2%κ-car]:[KCl] _{tf} ²	3,2	0,0058	76	0,935	100	60
[2%κ-car]:[bmim][Ac] _{tc} ³	1,6	0,0251	85	0,969	100	120
[2%κ-car]:[KCl] _{tc} ³	1,4	0,0113	77	0,989	100	180

Nota: Foram utilizados os seguintes valores: ¹desde o início da liberação até aos 10 minutos (inclusive); ²desde o início da liberação até aos 20 minutos (inclusive); ³do minuto 1 até os 45 minutos de liberação (inclusive).

Em relação à taxa de libertação linear, para o caso da tetraciclina é bastante idêntica nos dois aerogéis, já na libertação da teofilina é relativamente diferente entre os aerogéis utilizados, sendo superior à registada na tetraciclina.

Em seguida procedeu-se ao estudo da cinética propriamente dita. Na tabela (Tabela 3.14) seguinte é possível encontrar o valor de R^2 referente aos dados de libertação de teofilina e tetraciclina, para cada modelo cinético. As constantes cinéticas dos diferentes modelos foram obtidas pelos gráficos: i) K.Peppas: $\log C$ vs. $\log t$; ii) Higuchi: C vs. $t^{0,5}$; iii) primeira ordem: $\log C$ vs. t ; iv) ordem zero: C vs. t ; v) Hixson-Crowell: $1-(1-C)^{1/3}$ vs. t , onde C representa a percentagem de fármaco em solução no instante t (libertada) e onde t representa o tempo em minutos. Os gráficos obtidos para os vários modelos encontram-se presentes no Anexo 6.11

Tabela 3.14 - R^2 nos vários modelos cinéticos para a libertação da teofilina e da tetraciclina.

Amostra	Ordem zero	Primeira ordem	K.Peppas	Higuchi	Hixson-Crowell
[2%κ-car]:[bmim][Ac] _{tf}	0,470	0,376	0,757	0,703	0,470
[2%κ-car]:[bmim][Ac] _{tfscCO2}	0,638	0,489	0,827	0,812	0,638
[2%κ-car]:[KCl] _{tf}	0,805	0,618	0,975	0,954	0,805
[2%κ-car]:[bmim][Ac] _{tc}	0,804	0,650	0,980	0,953	0,804
[2%κ-car]:[KCl] _{tc}	0,856	0,727	0,937	0,963	0,856

Os modelos que melhor se ajustam para os sistemas estudados com impregnação de teofilina e tetraciclina foram os modelos Korsmeyer and Peppas e Higuchi. Para o caso da libertação da teofilina a partir dos diferentes aerogéis, o modelo que apresenta maior correlação é o de K.Peppas. Após se proceder ao cálculo dos parâmetros cinéticos referentes aos aerogéis de [bmim][Ac] para o modelo de K.Peppas, verificou-se que os valores saíam fora dos valores estabelecidos pelo método para os parâmetros cinéticos para diferentes geometrias (ver Anexo 6.12 Tabela 6.8). Sendo assim não é possível afirmar que a libertação de teofilina a partir de aerogéis de [bmim][Ac] segue um modelo cinético definido.

Na libertação de tetraciclina, num dos aerogéis ([2%κ-car]:[bmim][Ac]_{tc}) a libertação segue uma cinética de K.Peppas e no outro aerogel utilizado ([2%κ-car]:[KCl]_{tc}) a cinética de libertação com maior R^2 é o modelo de Higuchi. Dadas as características das matrizes utilizadas (degradação rápida e porosidade muito heterogénea), o modelo que talvez melhor se ajuste será o K.Peppas pois admite que haja uma degradação da mesma e é o modelo indicado quando o mecanismo de libertação não é determinado (pode ocorrer por difusão ou por um conjunto de

mecanismos inchamento/erosão da matriz) . Na Tabela 3.15 encontram-se indicados os parâmetros cinéticos determinados referentes à liberação dos fármacos.

Tabela 3.15 - Parâmetros cinéticos da liberação da teofilina e da tetraciclina.

Amostra	Modelo	Parâmetros	
[2%κ-car]:[bmim][Ac] _{tf}	K.Peppas	K _K	0,752
		n	0,070
[2%κ-car]:[bmim][Ac] _{tfscCO2}	K.Peppas	K _K	0,010
		n	2,074
[2%κ-car]:[KCl] _{tf}	K.Peppas	K _K	0,199
		n	0,459
[2%κ-car]:[bmim][Ac] _{tc}	K.Peppas	K _K	0,132
		n	0,484
[2%κ-car]:[KCl] _{tc}	K.Peppas	K _K	0,107
		n	0,465

O parâmetro K_K é a constante de liberação de Korsmeyer e n é um parâmetro empírico que caracteriza o mecanismo de liberação.

Como referido anteriormente, utilizou-se pedaços de aerogéis e por isso a sua geometria não é bem definida, no entanto a geometria a que se aproxima mais é a esférica e assim sendo esta foi a geometria que se assumiu para a interpretação do expoente n, na cinética de K.Peppas. Analisando o valor de n com o auxílio da Tabela 6.8 presente no Anexo 6.12, conclui-se que a liberação da teofilina e da tetraciclina nos diferentes aerogéis dá se por transporte anômalo (difusão juntamente com inchamento/erosão da matriz). Como também já foi referindo anteriormente, a liberação de teofilina a partir dos aerogéis de [bmim][Ac] não se adequa também ao modelo de K.Peppas, uma vez que os valores de K_K e n não são enquadram nos valores estabelecidos.

4. Conclusões

No desenvolvimento deste estudo, extraiu-se carragenano da alga alimentar da espécie *Chondrus crispus* (musgo irlandês), utilizando solventes tradicionais (NaOH, Ca(OH)₂ e H₂O) e LIs (solução aquosa com 1% ou 10% de [bmim][Ac], [THMP][Cl] e [Ch][HMal]).

A utilização das soluções aquosas aditivadas com estes LIs como solventes de extracção (em autoclave) não trouxe, na sua maioria, qualquer vantagem em relação ao uso de água (11,9%) para extrair carragenano, sendo que as percentagens de extrato obtida com os LIs são significativamente inferiores à obtida na extracção com soluções alcalinas (25,9% - 20,3%). Na extracção com o [bmim][Ac] não se verificou grande diferença entre a percentagem de extrato obtida com as diferentes concentrações de LI (9,4%-14%). Neste trabalho, o aumento da força iónica por adição de LI à água não demonstrou ter influência na extracção do carragenano. Características das soluções, como a viscosidade e o pH parecem influenciar mais determinantemente a extracção do carragenano, no entanto seria importante realizar um estudo mais pormenorizado para avaliar essa influência. As soluções alcalinas proporcionaram uma extracção bastante efetiva do carragenano presente na alga. O processo de extracção utilizando LIs terá de ser otimizado tendo em conta o tipo de LI utilizado e o seu carácter básico. Num trabalho futuro, a utilização de métodos tais como micro-ondas e ultrassons que permitam a utilização de menores tempos de extracção e temperaturas inferiores, poderá trazer vantagens à extracção do κ -car com LIs.

Procedeu-se também à síntese de géis de 2% (m/v) de κ -car em água, utilizando sais como agentes reticulantes e géis de 2% e 10% (m/m) de κ -car por dissolução em LIs.

Nem todos os LIs usados no processo de dissolução permitiram a formação de géis de κ -car. O LI [THMP][Cl] não permitiu que se chegasse a formar um gel, já o [Ch][HMal] permitiu a formação do gel, no entanto era frágil e acabou por se dissolver ao permanecer na mistura etanol água. As cargas negativas, o volume do catião e no caso do [THMP][Cl] a presença de H₂O com um pH de 2,5 do LI podem contribuir para a não estabilização da dupla hélice do carragenano. Os géis de κ -car obtidos com LIs ([bmim][Ac] e [bmim][Cl]) apresentaram-se mais opacos e rígidos do que os géis obtidos por adição de sais. Os géis de maior concentração 10% (m/m) são mais opacos e rígidos do que os de 2% (m/m) em κ -car.

Após a secagem com scCO₂, verificou-se um encolhimento uniforme para todos os aerogéis sem deformação axial. O volume dos géis diminuiu bastante depois da secagem, especialmente nos que foram sintetizados com adição de sais (cerca de 90% de volume perdido), já os géis com LI, perderam entre 62-69% do seu volume, não havendo diferença entre os de

maior e menor concentração em κ -car. Após secagem os géis tornam-se completamente opacos de cor branca, mas a sua forma original é mantida.

As amostras extraídas foram caracterizadas por FTIR-ATR e em todos os espectros obtidos eram visíveis as bandas características do κ -car. Algumas das amostras extraídas com LIs foram ainda analisadas por DSC de forma a avaliar acerca da presença de LI como contaminante. Os aerogéis de κ -car sintetizados também foram caracterizados por FTIR-ATR, DSC e TGA, para avaliar sobre a estrutura, estabilidade e possível contaminação com LIs após o processo de dissolução e gelificação com LIs. As propriedades texturais dos aerogéis foram também avaliadas (ASAP e SEM).

A análise por FTIR-ATR, demonstrou que o carragenano extraído com os solventes alcalinos, apresentava todas as bandas características do κ -car puro, assim como aquele que foi extraído somente com H_2O . O carragenano extraído com concentrações superiores de LI aditivado revelaram estar contaminadas e o mesmo foi observado para o carragenano extraído com 1% de LI exceto para a amostra extraída com [bmim][Ac].

Devido à contaminação detetada no κ -car extraído com água aditivada com LIs para a maioria das amostras seria importante tentar otimizar o processo de lavagem.

A análise textural (ASAP e SEM) realizada aos géis secos, revelou que os géis formados por dissolução do κ -car (10%) em LI não apresentavam estrutura reticular visível o que pode ser devido à falta de capacidade dos LIs para dissolver esta quantidade de κ -car. A reduzida porosidade dos géis com a maior concentração de κ -car, torna-os inviáveis para a impregnação de um fármaco e posterior libertação. A caracterização por ASAP, revelou que os restantes aerogéis, eram constituídos maioritariamente por mesoporos e macroporos. As amostras produzidas por dissolução em LIs demonstram ter maior número de macroporos apresentando uma estrutura reticular mais aberta, ao passo que as amostras produzidas por adição de sais apresentam estruturas reticulares mais fechadas e, portanto, de maior carácter mesoporoso.

Os resultados obtidos por TGA, demonstram que os aerogéis sintetizados apresentavam os três patamares característicos da decomposição do κ -car puro. Em três dos aerogéis de 2% de κ -car sintetizados com os sais e com [bmim][Ac], os patamares ocorrem a temperaturas mais baixas que no κ -car puro e a temperatura a que ocorreu uma decomposição mais acentuada é menor comparativamente à que ocorreu no κ -car puro. A antecipação da decomposição, pode dever-se ao facto de o κ -car já ter sido submetido a temperaturas superiores a 70°C no decorrer da síntese dos géis, fragilizando a estrutura do carragenano, tornando a decomposição mais fácil. No entanto o aerogel [2% κ -car][bmim]:[Cl] é uma exceção, o maior grau de reticulação da estrutura porosa da matriz formada pode dificultar a degradação, o que faz com que esta se inicie a uma temperatura semelhante à do κ -puro.

A análise de FTIR-ATR realizada aos aerogéis sintetizados revelou que tanto os aerogéis produzidos com adição de sais, como por dissolução em LIs, possuíam os picos característicos do κ -car puro e não evidenciavam vestígios de LI.

Os resultados de DSC indicam que os aerogéis obtidos por adição de sais apresentavam termogramas semelhantes entre si e idênticos ao termograma do κ -car puro. Os aerogéis sintetizados com LIs apresentam termogramas em que a descontinuidade referente à Tg dos LIs não era visível, pelo que é indicativo de não contaminação de LIs nos aerogéis.

Neste trabalho, com o intuito de avaliar se os aerogéis eram adequados à libertação de fármacos, procedeu-se à impregnação de dois fármacos (teofilina e tetraciclina), seguida do estudo da libertação em solução tampão fosfato a pH e temperatura controlados, de modo a simular a libertação em meio intestinal. Realizou-se um estudo ao comportamento cinético da libertação dos fármacos utilizados. De acordo com as características texturais, os aerogéis [2% κ -car]:[KCl] e [2% κ -car]:[bmim][Ac] foram os escolhidos para a impregnação dos fármacos modelo.

No caso do aerogel [2% κ -car]:[bmim][Ac] também se impregnou a teofilina com scCO_2 , este tipo de impregnação não trouxe diferenças significativas relativamente à massa de teofilina impregnada na matriz nem ao processo de libertação do fármaco. O aerogel [2% κ -car]:[KCl], foi o que proporcionou uma percentagem média de libertação inicial mais baixa, cerca de 13%. Nos aerogéis [2% κ -car]:[bmim][Ac] (com e sem scCO_2) a libertação total (ou quase total) é atingida por volta dos 20 minutos de libertação, no aerogel [2% κ -car]:[KCl], apenas é atingida ao fim de 60 minutos.

A libertação de tetraciclina, inicia-se nos dois aerogéis ao fim de um minuto da colocação do aerogel na solução tampão, sendo que a libertação média inicial foi de apenas 14% e 15% de tetraciclina a partir dos aerogéis [2% κ -car]:[KCl] e [2% κ -car]:[bmim][Ac], respectivamente. No aerogel [2% κ -car]:[KCl] a tetraciclina libertou-se totalmente ao fim de 180 minutos e no aerogel com [2% κ -car]:[bmim][Ac] ao fim de 120 minutos.

Registou-se o fenómeno *burst release*, especialmente na libertação da teofilina a partir dos aerogéis [2% κ -car]:[bmim][Ac]. A elevada quantidade de teofilina libertada nos minutos iniciais, pode dever-se à macroporosidade da matriz do aerogel.

No caso dos aerogéis que continham a teofilina aparentemente não foi registada degradação, nos aerogéis onde a tetraciclina foi impregnada amostras deixaram de ser bem visíveis no meio de dissolução a partir dos 60 minutos pelo que é de prever que a erosão/degradação das amostras tenha ocorrido em alguma extensão.

De acordo com as características dos aerogéis utilizados e com os resultados obtidos, a liberação da teofilina (apenas no aerogel [2% κ -car]:[KCl]_{tf}) e da tetraciclina, obedeceram ao modelo cinético de Korsmeyer-Peppas, ocorrendo a liberação por transporte anômalo. Nos aerogéis de [2% κ -car]:[bmim][Ac], onde a teofilina se encontrava impregnada (com e sem scCO₂), não foi possível atribuir um modelo cinético

Os aerogéis utilizados adequaram-se melhor a uma molécula maior, a tetraciclina, permitindo uma melhor liberação, comparativamente à registrada para a teofilina. No entanto, mesmo para o caso da tetraciclina, o tempo que demora a atingir os 100% de liberação é um pouco precoce.

Futuramente seria interessante e importante realizar um estudo mais alargado, para que seja possível averiguar a influência de certos parâmetros na liberação de fármacos a partir deste tipo de matrizes, com o intuito de melhorar a liberação. Esse estudo mais alargado pode passar por: i) tentar uma impregnação supercrítica tanto da teofilinas como da tetraciclina nos dois aerogéis; ii) utilizar uma matriz de dimensão mais representativa ou a original com uma geometria definida, atenuando desta forma um possível efeito da heterogeneidade da estrutura porosa; iii) investigar a degradação/erosão dos aerogéis de κ -car; iv) realizar a liberação num meio de dissolução ácido de modo a simular o pH do estômago; v) sintetizar aerogéis híbridos ou revestidos de modo retardar a liberação (pode evitar uma degradação precoce do aerogel); vi) realizar a impregnação do fármaco durante a formação do próprio gel; vii) estudar a liberação de outros fármacos que se possam ainda adequar mais às matrizes utilizadas para impregnação e viii) avaliar se a quantidade de fármaco que foi libertado para o meio estaria numa concentração terapêutica.

5. Bibliografia

- [1] R. R. Bhosale, R. A. M. Osmani e A. Moin, “Natural Gums and Mucilages: A Review on Multifaceted Excipients in Pharmaceutical Science and Research,” *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, vol. 6, pp. 901-912, 2014.
- [2] K. Kaushik, R. B. Sharma e S. Agarwal, “Natural Polymers and their Applications,” vol. 5, pp. 30-36, 2016.
- [3] M. Rinaudo, “Review: Main properties and current applications of some polysaccharides as biomaterials,” *Polymer International*, vol. 57, p. 397–430, 2008.
- [4] L. Li, R. Ni, Y. Shao e S. Mao, “Review: Carrageenan and its applications in drug delivery,” *Carbohydrate Polymers*, vol. 103, pp. 1-11, 2014.
- [5] L. C. Branco, “Líquidos Iônicos: Aplicações e Perspectivas Futuras,” *Boletim da Sociedade Portuguesa de Química*, vol. 139, pp. 15-22, Out-Dez 2015.
- [6] T. J. Trivedi e A. Kumar, “Efficient Extraction of Agarose from Red Algae Using Ionic Liquids,” *Green and Sustainable Chemistry*, vol. 4, pp. 190-201, 2014.
- [7] R. P. Swatoski, S. K. Spear, J. D. Holbrey e R. D. Rogers, “Dissolution Cellulose with Ionic Liquids,” *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 124, p. 4974–4975, 2002.
- [8] M. J. Moura, “Aplicações do Quitosano em Liberação Controlada de Fármacos: Algumas Considerações,” *Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer*, vol. 8, pp. 1489-1509, 2012.
- [9] I. F. Uchegbu, “Introduction,” em *In Polymers in drug delivery*, Boca Raton, Taylor & Francis: Uchegbu, Ijeoma F. ; Schatzlein, Andreas G., 2006, pp. 1-5.
- [10] J. F. E. C. o. F. Additives, “Compendium of Food Additive Specifications,” *FAO JECFA Monographs 16*, vol. 79th JECFA, pp. 7-12, 2014.
- [11] F. v. d. Velde, S. Knutsen, A. Usov, H. Rollema e A. Cerezo, “¹H and ¹³C high resolution NMR spectroscopy of carrageenans: application in research and industry,” *Trends in Food Science & Technology*, vol. 13, p. 73–92, 2002.
- [12] M. D. Rosa, “Biological properties of carrageenan,” *J. Plazvm. Phavrnac*, vol. 24, pp. 89-102, 1972.
- [13] K. J. Yarema, *Handbook of Carbohydrate Engineering*, CRC Press, 2005.
- [14] N. F. Stanley e P. Harris, “Carrageenans,” em *Food Gels*, Elsevier Science Publishers Ltd, 1990, pp. 79-119.
- [15] “Chondrus crispus Stackhouse,” [Online]. Available: http://www.seaweed.ie/descriptions/chondrus_crispus.php. [Acedido em 14 Junho 2017].
- [16] S.-K. Kim, *Marine Glycobiology: Principles and Applications*, CRC Press, 2016.
- [17] J. Necas e L. Bartosikova, “Carrageenan: a review,” *Veterinarni Medicina*, vol. 58, pp. 187-205, 2013.

- [18] The World Health Organization, “Evaluation of certain food additives,” *WHO Technical Report Series*, vol. 79, pp. 14-23, 2014.
- [19] D. J. McHugh, “Carrageenan,” em *A guide to the seaweed industry: FAO fisheries technical paper 441*, Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2003.
- [20] V. L. Campo, D. F. Kawano, D. Braz da Silva Jr e I. Carvalho, “Carrageenans: Biological properties, chemical modifications and structural analysis – A review,” *Carbohydrate Polymers*, vol. 77, p. 167–180, 2009.
- [21] R. C. S. P. J. & Q. M. E. Rowe, “Carrageenan,” em *Handbook of pharmaceutical excipients*, London, Pharmaceutical Press, 2009, pp. 122-126.
- [22] Stanley e Norman, “Production and utilization of products from commercial seaweeds.(Chapter 3),” Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1987. [Online]. Available: http://www.fao.org/docrep/x5822e/x5822e05.htm#chapter_3 production, properties and uses of carrageenan. [Acedido em 11 Julho 2017].
- [23] L. Pereira, “Extracção, Caracterização e Utilização das Carragenanas,” [Online]. Available: <http://www.cienciaviva.pt/rede/oceanos/1desafio/Artigosintesesobrecarragenanas.pdf>. [Acedido em 9 Julho 2017].
- [24] W. W. Hawkins e V. G. Leonard, “The antithrombic activity of carrageenan in human blood,” *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, vol. 41, pp. 1325-1327, 1963.
- [25] P. J. Caceres, M. J. Carlucci, E. B. Damonte, B. Matsuhira e E. A. Zuniga, “Carrageenans from Chilean samples of *Stenogramme interrupta* (Phyllophoraceae): Structural analysis and biological activity,” *Phytochemistry*, vol. 53, p. 81–86, 2000.
- [26] M. E. Gonzalez, B. Alarcón e L. Carrasco, “Polysaccharides as Antiviral Agents: Antiviral Activity of Carrageenan,” *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol. 31, pp. 1388-1393, 1987.
- [27] M. Witvrouw e E. DeClercq, “Sulfated polysaccharides extracted from seaalgae as potential antiviral drugs,” *General Pharmacology: The Vascular System*, vol. 29, p. 497–511, 1997.
- [28] J. Stiles, L. Guptill-Yoran, G. E. Moore e R. M. Pogranichniy, “Effects of lambda-carrageenan on in vitro replication of feline herpesvirus and on induced herpetic conjunctivitis in cats,” *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, vol. 49, p. 1496–1501, 2008.
- [29] R. Spieler, “Seaweed compound’s anti-HIV efficacy will be tested in southern Africa,” *The Lancet*, vol. 359, p. 1675, 2002.
- [30] C. B. Buck, C. D. Thompson, J. N. Roberts, M. Muller, D. R. Lowy e J. T. Schiller, “Carrageenan Is a Potent Inhibitor of Papillomavirus Infection,” *PLoS Pathogens*, vol. 2, pp. 671-680, 2006.
- [31] M. Luo, B. Shao, W. Nie, X.-W. Wei, Y.-L. Li, B.-L. Wang, Z.-Y. He, X. Liang, T.-H. Ye e Y.-Q. Wei, “Antitumor and Adjuvant Activity of λ -carrageenan by Stimulating Immune Response in Cancer Immunotherapy,” *Scientific Reports*, vol. 11062, 2015.
- [32] H. Yuana, J. Song, X. Li, N. Li e J. Dai, “Immunomodulation and antitumor activity of k-carrageenan oligosaccharides,” *Cancer Letters*, vol. 243, p. 228–234, 2006.

- [33] M. C. Rocha de Souza, C. T. Marques, C. M. G. Dore, F. R. Ferreira da Silva, H. A. O. Rocha e E. L. Leite, “Antioxidant activities of sulfated polysaccharides from brown and red seaweeds,” *Journal of Applied Phycology*, vol. 19, pp. 153-160, 2007.
- [34] L. N. Panlasigui, O. Q. Baello, J. M. Dimatangal e D. B. Dumelod, “Blood cholesterol and lipid-lowering effects of carrageenan on human volunteers,” *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, vol. 12, pp. 209-214, 2003.
- [35] U. S. A. N. C. (USAN), “New Names,” *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, vol. List No. 297, pp. 246-248, 1988.
- [36] F. Van de Velde, N. D. Lourenco, H. M. Pinheiro e M. Bakkerd, “Carrageenan: A Food-Grade and Biocompatible Support for Immobilisation Techniques,” 2002, pp. 815-835.
- [37] M. Hariharan, T. A. Wheatley e J. C. Price, “Controlled-Release Tablet Matrices from Carrageenans: Compression and Dissolution Studies,” *Pharmaceutical Development and Technology*, vol. 2, pp. 383-393, 1997.
- [38] “Lista dos Emulsionantes, estabilizantes, espessantes e gelificantes,” Quali.pt - Segurança Alimentar, [Online]. Available: <http://www.quali.pt/aditivos-alimentares/502-lista-emulsionantes-espessantes-gelificantes>. [Acedido em 12 Junho 2017].
- [39] C. A. Commission, “GSFA Online: Food additive details: Carrageenan (407),” FAO/WHO Food Standards, 2016. [Online]. Available: <http://www.fao.org/gsfonline/additives/details.html?id=49>. [Acedido em 30 Maio 2017].
- [40] L. Piculell, A. M. Stephen, G. O. Phillips e P. A. Williams, “Gelling Carrageenans,” em *Food Polysaccharides and Their Applications*, 2º ed., Taylor & Francis Group, 2006, pp. 239-287.
- [41] J. C. O. Villanova e R. L. Oréface, “Aplicações Farmacêuticas de Polímeros,” *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, vol. 20, pp. 51-64, 2010.
- [42] K. M. Picker, “The use of carrageenan in mixture with microcrystalline cellulose and its functionality for making tablets,” *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, vol. 48, p. 27-36, 1999.
- [43] L. Li, L. Wang, Y. Shao, Y. Tian, C. Li, Y. Li e S. Mao, “Elucidation of Release Characteristics of Highly Soluble Drug Trimetazidine Hydrochloride from Chitosan-Carrageenan Matrix Tablets,” *Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 102, p. 2644-2654, 2013.
- [44] I. Moreno-Villoslada, F. Oyarzun, V. Miranda, S. Hess e B. L. Rivas, “Binding of Chlorpheniramine Maleate to Pharmacologically Important Alginic Acid, Carboxymethylcellulose, k-Carrageenan, and i-Carrageenan as Studied by Diafiltration,” *Journal of Applied Polymer Science*, vol. 98, pp. 598-602, 2005.
- [45] M. C. Bonferoni, S. Rossi, M. Tamayo, J. L. Pedraz, A. Dominguez-Gil e C. Caramella, “On the employment of A-carrageenan in a matrix system. I. Sensitivity to dissolution medium and comparison with Na carboxymethylcellulose and xanthan gum,” *Journal of Controlled Release*, vol. 26, pp. 119 - 121, 1993.
- [46] M. C. Bonferoni, S. Rossi, M. Tamayo, J. L. Pedraz, A. Dominguez-Gil e C. Caramella, “On the employment of Lambda-carrageenan in a matrix system. II. Lambda-Carrageenan and hydroxypropylmethylcellulose mixtures,” *Journal of Controlled Release*, vol. 30, p. 175-182, 1994.

- [47] A. V. Briones e T. Sato, “Encapsulation of glucose oxidase (GOD) in polyelectrolyte complexes of chitosan–carrageenan,” *Reactive & Functional Polymers*, vol. 70, p. 19–27, 2010.
- [48] S. Rokka e P. Rantamaki, “Protecting probiotic bacteria by microencapsulation: challenges for industrial applications,” *European Food Research and Technology*, vol. 231, pp. 1–12, 2010.
- [49] H. Hezaveh, I. I. Muhamad, I. Noshadi, L. S. Fen e N. Ngadi, “Swelling behaviour and controlled drug release from cross-linked k-carrageenan/NaCMC hydrogel by diffusion mechanism,” *Journal of Microencapsulation*, vol. 29, p. 368–379, 2012.
- [50] A. K. Stone e M. T. Nickerson, “Formation and functionality of whey protein isolate-(kappa-, iota-, and lambda-type) carrageenan electrostatic complexes,” *Food Hydrocolloids*, vol. 27, pp. 271–277, 2012.
- [51] S. Miyazaki, M. Ishitani, A. Takahashi, T. Shimoyama, K. Itho e D. Attwood, “Carrageenan Gels for Oral Sustained Delivery of Acetaminophen to Dysphagic Patients,” *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, vol. 34, p. 164–166, 2011.
- [52] H. Hezaveh e I. I. Muhamad, “The effect of nanoparticles on gastrointestinal release from modified -carrageenan nanocomposite hydrogels,” *Carbohydrate Polymers*, vol. 89, p. 138–145, 2012.
- [53] M. L. Asanza-Teruel, E. Gontier, C. Bienaime, J. E. Nava-Saucedo e J. Barbotin, “Response surface analysis of chlortetracycline and tetracycline production with K-carrageenan immobilized *Streptomyces aureofaciens*,” *Enzyme and Microbial Technology*, vol. 21, pp. 314–320, 1997.
- [54] Y. P. Chao, H. Fu, T. E. Lo, P. T. Chen e J. J. Wang, “One-Step Production of D-p-Hydroxyphenylglycine by Recombinant *Escherichia coli* Strains,” *Biotechnology Progress*, vol. 15, p. 1039–1045, 1999.
- [55] V. A. P. M. Dos Santos, M. Bruijnse, J. Tramper e R. H. Wijffels, “The magic-bead concept: an integrated approach to nitrogen removal with co-immobilized micro-organisms,” *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 45, p. 447–453, 1996.
- [56] M. B. Cassidy, K. W. Shaw, H. Lee e J. T. Trevors, “Enhanced mineralization of pentachlorophenol by k-carrageenan-encapsulated *Pseudomonas* sp. UG30,” *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 47, p. 108–113, 1997.
- [57] P. M. A. Coimbra, “Preparação e Caracterização de Sistemas de Libertação Controlada de Fármacos com base em Polímeros de Origem Natural,” Universidade de Coimbra - Faculdade de Ciências e Tecnologia, Coimbra, 2010.
- [58] P. Kiptoo, A. M. Calcagno e T. J. Siahaan, “Physiological, Biochemical, and chemical barriers to oral drug delivery,” em *Drug Delivery: Principles and Applications*, John Wiley & Sons, Inc: Wang, Binghe; Hu, Longqin; Siahaan, Teruna J., 2005, pp. 19–34.
- [59] R. A. C. Pires, “Preparação e caracterização de micropartículas de polissacarídeos produzidas por secagem por atomização para libertação controlada de fármacos,” Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa, 2015.
- [60] P. M. B. d. S. Coelho, “Desenvolvimento de formulações de libertação modificada de ranitidina,” Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, Porto, 2007.

- [61] P. Venkatesan, R. Manavalan e K. Valliappan , “Microencapsulation: A vital technique in novel drug delivery system,” *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, vol. 1, pp. 26-35, 2009.
- [62] E. Gultepe, D. Nagesha, S. Sridhar e M. Amiji, “Nanoporous inorganic membranes or coatings for sustained drug delivery in implantable devices.,” *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 62, pp. 305-315, 2010.
- [63] R. H. Müller, K. MaËder e S. Gohla, “Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery- a review of the state of the art.,” *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, vol. 50, pp. 161-177, 2000.
- [64] W. Wang, X. Liu, Y. Xie, H. Zhang, W. Yu, Y. Xiong, W. Xie e X. Ma, “Microencapsulation using natural polysaccharides for drug delivery and cell implantation,” *Journal of Materials Chemistry*, vol. 16, pp. 3252-3267, 2006.
- [65] C. García-González, M. Alnaief e I. Smirnova, “Polysaccharide-based aerogels—Promising biodegradable carriers for drug delivery systems,” *Carbohydrate Polymers*, vol. 86, p. 1425– 1438, 2011.
- [66] Z. Liu, Y. Jiao , Y. Wang, C. Zhou e Z. Zhang, “Polysaccharides-based nanoparticles as drug delivery systems,” *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 60, p. 1650–1662, 2008.
- [67] R. E. Moura, “Síntese de nanopartículas à base de goma de cajueiro para aplicação em sistemas de liberação de fármacos,” Universidade Federal do Ceará - Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Fortaleza-Ceará, 2009.
- [68] F. M. P. d. Gama e M. C. M. Molinos, “Hidrogel de Dextrino para Aplicações Biomédicas”. Portugal/Braga Patente PT 104879, 14 Junho 2011.
- [69] P. Costa e J. M. S. Lobo, “Modeling and comparison of dissolution profiles,” *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 13, p. 123–133, 2001.
- [70] G. Singhvi e M. Singh, “Review: In-Vitro Drug Release Characterization Models,” *International Journal of Pharmaceutical Studies and Research*, vol. 2, pp. 77-84, 2011.
- [71] B. N. Estevinho, F. Rocha, L. Santos e A. Alves, “Microencapsulation with chitosan by spray drying for industry applications,” *Trends in Food Science & Technology*, vol. 31, pp. 138-155, 2013.
- [72] P. L. Ritger e N. A. Peppas, “A simple equation for description of solute release II. Fickian and anomalous release from swellable devices,” *Journal of Controlled Release*, vol. 5, pp. 37-42, 1987.
- [73] P. L. Ritgert e N. A. Peppas, “Transport of penetrants in the macromolecular structure of coals 4. Models for analysis of dynamic penetrant transport,” *FUEL*, vol. 66, pp. 815-826, 1987.
- [74] P. J. Cox, K. A. Khan, D. L. Munday e J. Sujja-areevath, “Development and evaluation of a multiple-unit oral sustained release dosage form for S(+)-ibuprofen: preparation and release kinetics,” *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 193, p. 73–84, 1999.
- [75] T. R. Hoare e D. S. Kohane, “Hydrogels in drug delivery: Progress and challenges,” *Polymer* , vol. 49, pp. 1993-2007, 2008.
- [76] S. H. Jeong, K. M. Huh e K. Park, “Hydrogel drug delivery systems,” em *Polymers in drug deliver* , Boca Raton, Uchegbu, Ijeoma F.; Schatzlein, Andreas G. - Taylor & Francis, 2006, pp. 49-59.

- [77] A. S. Hoffman, “Hydrogels for Biomedical Applications,” *Bioartificial Organs Iii: Tissue Sourcing, Immunoisolation, and Clinical Trials*, vol. 944, pp. 62-73, 2001.
- [78] A. Patel e K. Mequanint, “Biomedical Engineering - Frontiers and Challenges: Chapter 14 - Hydrogel Biomaterials,” InTech, 1 Agosto 2011. [Online]. Available: <https://www.intechopen.com/books/biomedical-engineering-frontiers-and-challenges/hydrogel-biomaterials/>. [Acedido em 28 Julho 2017].
- [79] C. C. Lin e A. T. Metters, “Hydrogels in controlled release formulations: Network design and mathematical modeling,” *Advanced Drug Delivery Reviews* 5, vol. 58, p. 1379–1408, 2006.
- [80] N. Bhattarai, J. Gunn e M. Zhang, “Advanced Drug Delivery Reviews,” *Chitosan-based hydrogels for controlled, localized drug delivery.*, vol. 62, pp. 83-99, 2010.
- [81] M. T. S. Alcântara, “Hidrogéis poliméricos com nanopartículas de prata para aplicações médicas,” Ipen - Autarquia associada à universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.
- [82] S. S. Kistler, “Coherent expanded aerogels and jellies.,” *Nature*, vol. 127, p. 741, 1931.
- [83] F. Quignard, F. Di Renzo e E. Guibal, “From natural polysaccharides to materials for catalysis, adsorption, and remediation,” em *Carbohydrates in Sustainable Development I*, 2010, pp. 165-197.
- [84] I. Pasquali e R. Bettini, “Are pharmaceuticals really going supercritical?,” *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 364, p. 176–187, 2008.
- [85] M. Mukhopadhyay e B. S. Rao, “Modeling of supercritical drying of ethanol-soaked silica aerogels with carbon dioxide.,” *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, vol. 83, p. 1101–1109, 2008.
- [86] F. Liebner, E. Haimer, A. Potthast, D. Loidl, S. Tschegg, M.-A. Neouze, M. Wendland e T. Rosenau, “Cellulosic aerogels as ultra-lightweight materials. Part 2: Synthesis and properties,” *Holzforschung*, vol. 63, p. 3–11, 2009.
- [87] M. Stievano e N. Elvassore, “High-pressure density and vapor–liquid equilibrium for the binary systems carbon dioxide–ethanol, carbon dioxide–acetone and carbon dioxide–dichloromethane,” *Journal of Supercritical Fluids*, vol. 33, p. 7–14, 2005.
- [88] M. Robitzer, L. David, C. Rochas, F. Di Renzo e F. Quignard, “Nanostructure of calcium alginate aerogels obtained from multistep solvent exchange route,” *Langmuir*, vol. 24, p. 12547–12552, 2008.
- [89] F. Quignard, R. Valentin e F. Di Renzo, “Aerogel materials from marine polysaccharides.,” *New Journal of Chemistry*, vol. 32, p. 1300–1310, 2008.
- [90] K. Ganesan e L. Ratke, “Facile preparation of monolithic k-carrageenan aerogels,” *Soft Matter*, vol. 10, p. 3218–3224, 2014.
- [91] K. P. Lee e G. L. Gould, “Aerogel powder therapeutic agents”. Patente US 6994842 B2, 7 Fevereiro 2006.
- [92] T. Mehling, I. Smirnova, U. Guenther e R. Neubert, “Polysaccharide-based aerogels as drug carriers,” *Journal of Non-Crystalline Solids*, vol. 355, p. 2472–2479, 2009.
- [93] F. Pina e L. C. Branco, “Photochromism in Ionic Liquids. Theory and Applications,” em *Ionic Liquids: Theory, Properties, New Approaches*, Kokorin, Alexander, 2011, pp. 137-166.

- [94] L. F. Vega, O. Vilaseca, E. Valente, J. S. Andreu, F. Llorell e R. M. Marcos, “Using Molecular Modelling Tools to Understand the Thermodynamic Behaviour of Ionic Liquids,” em *Ionic Liquids: Theory, Properties, New Approaches*, Kokorin, Alexander, 2011, pp. 303-328.
- [95] P. Wasserscheid e W. Keim, “Ionic Liquids-New "Solutions" for Transition Metal Catalysis,” *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 39, pp. 3772-3789, 2000.
- [96] K. J. Kulacki e G. A. Lambertia , “Toxicity of imidazolium ionic liquids to freshwater algae,” *Green Chemistry*, vol. 10, pp. 104-110, 2008.
- [97] M. Petkovic, J. L. Ferguson, H. Q. N. Gunaratne, R. Ferreira, M. C. Leitão, K. R. Seddon, L. P. N. Rebelo e C. S. Pereira, “Novel biocompatible cholinium-based ionic liquids— toxicity and biodegradability,” *Green Chemistry*, vol. 12, p. 643–649, 2010.
- [98] J.-i. Kadokawa, “Preparation of Polysaccharide-based Materials Compatibilized with Ionic Liquids,” em *Ionic Liquids: Applications and Perspectives*, 2011, pp. 95-114.
- [99] A. Pinkert, K. N. Marsh, S. Pang e M. P. Staiger, “Ionic Liquids and Their Interaction with Cellulose,” *Chemical Reviews*, vol. 109, p. 6712–6728, 2009.
- [100] J. Zhang, H. Zhang, J. Wu, J. Zhang, J. He e J. Xiang, “NMR spectroscopic studies of cellobiose solvation in EmimAc aimed to understand the dissolution mechanism of cellulose in ionic liquids,” *Physical Chemistry Chemical Physics*, vol. 12, p. 1941–1947, 2010.
- [101] H. Izawa, Y. Kaneko e J.-i. Kadokawa, “Unique gel of xanthan gum with ionic liquid and its conversion into high performance hydrogel,” *Journal of Materials Chemistry*, vol. 19, p. 6969–6972, 2009.
- [102] J.-i. Kadokawa, M.-a. Murakami e Y. Kaneko, “A facile preparation of gel materials from a solution of cellulose in ionic liquid,” *Carbohydrate Research*, vol. 343, p. 769–772, 2008.
- [103] A. K. Das, M. Sharma, D. Mondal e K. Prasad, “Deep eutectic solvents as efficient solvent system for the extraction of k-carrageenan from Kappaphycus alvarezii,” *Carbohydrate Polymers*, 2015.
- [104] Paiva, Maria da Conceição , “Espectroscopia de IV,” 18 Dezembro 2006. [Online]. Available: <http://www.dep.uminho.pt/mcpaiva/pdfs/CCP/0607F07.pdf>. [Acedido em 23 Julho 2017].
- [105] J. G. Leite, “Aplicação das Técnicas de Espectroscopia FTIR e de Micro Espectroscopia Confocal Raman à Preservação do Património,” Universidade do Porto, 2008.
- [106] R. C. Santana, “Análise Instrumental Aplicada a Polímeros,” 2009. [Online]. Available: https://chasqueweb.ufrgs.br/~ruth.santana/analise_instrumental/aula2b.html. [Acedido em 12 Julho 2017].
- [107] analisestermicas.com.br, “Análise Térmica e Termogravimetria - Como interpretar curvas de TGA e DSC,” [Online]. Available: <http://www.analisestermicas.com.br/como-interpretar-curvas-de-tga-e-dsc/>. [Acedido em 10 Junho 2017].
- [108] L. H. B. Filho, “Métodos termoanalíticos de análise (TG, DTG, DTA, DSC),” SlideShare, 9 Dezembro 2014. [Online]. Available: <https://pt.slideshare.net/luishenriquebembofilho/mtodos-trmoanalticos-de-anlise-tg-dtg-dta-dsc>. [Acedido em 10 Julho 2017].

- [109] V. L. Ketta e D. M. Price, “3 - Thermogravimetry,” em *Principles of Thermal Analysis and Calorimetry*, Royal Society of Chemistry, 2016, pp. 18-45.
- [110] M. E. S. Machado, “Análise Térmica Diferencial e Termogravimétrica,” Novembro 2008. [Online]. Available: http://www.academia.edu/7599003/ANÁLISE_TÉRMICA_DIFERENCIAL_E_TERM_OGRAVIMÉTRICA. [Acedido em 10 Julho 2017].
- [111] M. C. Gonçalves, “Caracterização Química e Térmica de Materiais,” [Online]. Available: <https://fenix.tecnico.ulisboa.pt/downloadFile/3779573924298/DSC2010.pdf>. [Acedido em 10 Julho 2017].
- [112] M. H. Casimiro, J. P. Leal, M. H. Gil e A. Nieto de Castro, “Análise Calorimétrica aplicada a Polímeros Biológicos,” pp. 29-36.
- [113] I. Ávila, P. M. Crnkovic e F. E. Milioli, “Metodologia para o estudo da porosidade de dolomita em ensaio de sulfatação interrompida,” *Química Nova*, vol. 33, 2010.
- [114] Unicamp, “(ASAP) – Adsorção Química e Adsorção Física,” [Online]. Available: <http://www.feq.unicamp.br/index.php/administracao-principal/instr07>. [Acedido em 10 Julho 2017].
- [115] Y. R. Cruz e N. O. Tapanes, “Catalisadores: Caracterização e Avaliação,” [Online]. Available: www.eq.ufrj.br/docentes/donato_web/arquivos/absorcao_metodos_termicos.ppt. [Acedido em 10 Julho 2017].
- [116] Universidade do Minho, “Capítulo 4 – Técnicas de Caracterização de Revestimentos Finos - Microscopia Electrónica de Varrimento (SEM),” [Online]. Available: <https://repositorium.sdum.uminho.pt/bitstream/1822/3280/5/Capítulo%204.pdf>. [Acedido em 10 Julho 2017].
- [117] “Microscópio Eletrónico de Varredura,” [Online]. Available: <http://www.degeo.ufop.br/laboratorios/microlab/mev.htm>. [Acedido em 10 Julho 2017].
- [118] M. G. Ventura, A. I. Paninho, A. V. M. Nunes, I. M. Fonseca e L. C. Branco, “Biocompatible Locust bean gum gels prepared by Ionic Liquids and scCO₂ sustainable system,” *RSC Advances*, vol. 5, pp. 107700-107706, 2015.
- [119] K. Prasad, Y. Kaneko e J.-i. Kadokawa, “Novel Gelling Systems of κ -, ι - and λ -Carrageenans and their Composite Gels with Cellulose Using Ionic Liquid,” *Macromolecular Bioscience*, vol. 9, p. 376–382, 2009.
- [120] Y. Wu, T. Sasaki, S. Irie e K. Sakurai, “A novel biomass-ionic liquid platform for the utilization of native chitin,” *Polymer*, vol. 49, p. 2321–2327, 2008.
- [121] C. Chung, K. J. Lampe e S. C. Heilshorn, “Tetrakis(hydroxymethyl) Phosphonium Chloride as a Covalent Cross-Linking Agent for Cell Encapsulation within Protein-Based Hydrogels,” *Biomacromolecules*, vol. 13, p. 3912–3916, 2012.
- [122] MERCK, “Ficha de Informações de Segurança de Produtos,” 2015. [Online]. Available: http://www.merck-performance-materials.com/merck-ppf/detailRequest?unit=CHEM&owner=MDA&productNo=490079&language=Z9&country=BR&docType=MSD&source=GDS&docId=/mda/chemicals/msds/z9-BR/490079_SDS_BR_Z9.PDF. [Acedido em 23 Julho 2017].

- [123] ChemSpider Search and share chemistry, “1-Butyl-3-methylimidazolium Chloride,” [Online]. Available: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.2015917.html>. [Acedido em 23 Julho 2017].
- [124] Santa Cruz Biotecnologia, “1-Butyl-3-methylimidazolium acetate,” [Online]. Available: <https://www.scbt.com/scbt/product/1-butyl-3-methylimidazolium-acetate-284049-75-8>. [Acedido em 23 Julho 2017].
- [125] SIGMA-ALDRICH, “1-Butyl-3-methylimidazolium acetate,” [Online]. Available: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sial/30367?lang=pt®ion=PT>. [Acedido em 23 Julho 2017].
- [126] C. Ruß e B. König, “Low melting mixtures in organic synthesis – an alternative to ionic liquids?,” *Green Chemistry*, vol. 14, p. 2969–2982, 2012.
- [127] Y. Fukaya, Y. Iizuka, K. Sekikawa e H. Ohno, “Bio ionic liquids: room temperature ionic liquids composed wholly of biomaterials,” *Green Chemistry*, vol. 9, p. 1155–1157, 2007.
- [128] J. Restolho, J. L. Mata e B. Saramago, “Choline based ionic liquids: Interfacial properties of RTILs with strong hydrogen bonding,” *Fluid Phase Equilibria*, vol. 322–323, p. 142–147, 2012.
- [129] Merck, “Ficha de Dados de Segurança,” 2013. [Online]. Available: http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:UhZTc_p6i2UJ:www.merckmillipore.com/INTERSHOP/web/WFS/Merck-LU-Site/en_US/-/EUR/ShowDocument-File%3FProductSKU%3DMDA_CHEM-840069%26DocumentId%3D840069_SDS_PT_PT.PDF%26DocumentType%3DMSD%26Language%3DPT%26. [Acedido em 23 Julho 2017].
- [130] Sigma-Aldrich, “Tetrakis(hydroxymethyl)phosphonium chloride solution 80% in H₂O,” [Online]. Available: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/404861?lang=pt®ion=PT>. [Acedido em 23 Julho 2017].
- [131] N. Rhein-Knudsen, M. T. Ale e A. S. Meyer, “Seaweed Hydrocolloid Production: An Update on Enzyme Assisted Extraction and Modification Technologies,” *Marine Drugs*, vol. 13, pp. 3340–3359, 2015.
- [132] B. Thanoo, M. Sunny e A. Jayakrishnan, “Cross-linked chitosan microspheres: preparation and evaluation as a matrix for the controlled release of pharmaceuticals,” *J. Pharm. Pharmacol.*, vol. 44, p. 283 – 286, 1992.
- [133] I. Genta, M. Costantini, A. Asti, B. Conti e L. Montanari, “Influence of glutaraldehyde on drug release and mucoadhesive properties of chitosan microspheres,” *Carbohydr. Polym.*, vol. 36, p. 81 – 88, 1998.
- [134] H. Tomida, C. Nakamura e S. Kiryu, “A novel method for the preparation of controlled-release theophylline capsules coated with a polyelectrolyte complex of k-carrageenan and chitosan,” *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, vol. 42, pp. 979–981, 1994.
- [135] PubChem, “Theophylline,” [Online]. Available: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/theophylline#section=Top>. [Acedido em 10 Julho 2017].
- [136] Drugs.com, “Theophylline Pronunciation,” Dezembro 2016. [Online]. Available: <https://www.drugs.com/pro/theophylline.html>. [Acedido em 10 Julho 2017].

- [137] Sigma-Aldrich, “Theophylline anhydrous, $\geq 99\%$, powder,” [Online]. Available: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/t1633?lang=pt®ion=PT>. [Acedido em 10 Julho 2017].
- [138] K. M. Ohta, M. Fuji, T. Takei e M. Chikazawa, “Development of a simple method for the preparation of a silica gel based controlled delivery system with a high drug content,” *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 26, p. 87–96, 2005.
- [139] Sanaleczanemiz, “Teofilin (Aminofilin),” [Online]. Available: <http://www.sanaleczanemiz.com.tr/ilacrehber/teofilin-aminofilin/>. [Acedido em 10 Julho 2017].
- [140] A. Stoica-Guzun, M. Stroescu, F. Tache, T. Zaharescu e E. Grosu, “Effect of electron beam irradiation on bacterial cellulose membranes used as transdermal drug delivery systems,” *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, vol. 265, p. 434–438, 2007.
- [141] G. . K. d. R. Cortes, E. F. S. Vieira, A. R. Cestari e R. A. Chagas, “Tetracycline Release from Chitosan/Fish-Scale-Based Membranes,” *Journal Applied Polymer Science*, vol. 131, pp. 1-7, 2014.
- [142] G. Goissis e M. H. d. Sousa, “Characterization and in vitro Release Studies of Tetracycline and Rolitetracycline Immobilized on Anionic Collagen Membranes,” *Materials Research*, vol. 12, pp. 69-74, 2009.
- [143] Drugs.com, “Tetracycline,” [Online]. Available: <https://www.drugs.com/tetracycline.html>. [Acedido em 8 Dezembro 2017].
- [144] I. Chopra e M. Roberts, “Tetracycline Antibiotics: Mode of Action, Applications, Molecular Biology, and Epidemiology of Bacterial Resistance,” *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, vol. 65, p. 232–260, 2001.
- [145] I. Chopra, P. M. Hawkey e M. Hinton, “Review: Tetracyclines, molecular and clinical aspects,” *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, vol. 29, pp. 245-277, 1992.
- [146] I. Chopra, “Mode of Action of the Tetracyclines and the Nature of Bacterial Resistance to Them,” em *Handbook of Experimental Pharmacology: The Tetracyclines*, vol. 78, Springer, Berlin, Heidelberg, 1985, pp. 317-392.
- [147] I. Chopra, T. G. B. Howe, A. H. Linton, K. B. Linton, M. H. Richmond e D. C. E. Speller, “The tetracyclines: prospects at the beginning of the 1980s,” *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, vol. 8, p. 5–21, 1981.
- [148] Sigma-Aldrich, “Product Information: Tetracycline Hydrochloride,” Julho 2003. [Online]. Available: https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigma-aldrich/docs/Sigma/Product_Information_Sheet/1/t3383pis.pdf. [Acedido em 10 Dezembro 2017].
- [149] F. Varanda, M. J. Pratas de Melo, A. I. Caço, R. Dohrn, F. A. Makrydaki, E. Voutsas, D. Tassios e I. M. Marrucho, “Solubility of Antibiotics in Different Solvents. 1. Hydrochloride Forms of Tetracycline, Moxifloxacin, and Ciprofloxacin,” *Industrial & Engineering Chemistry Research*, vol. 45, pp. 6368-6374, 2006.
- [150] Carl Roth, “Tetracycline hydrochloride,” [Online]. Available: https://www.carlroth.com/en/en/Chemicals/A-Z-Chemicals/T/Tetracycline-hydrochloride/Tetracycline-hydrochloride/p/000000050000167800010023_en. [Acedido em 11 Dezembro 2017].

- [151] S. Istini, M. Ohno e H. Kusunose, "Methods of Analysis for Agar, Carrageenan and Alginate in Seaweed," *Bulletin of Marine Sciences and Fisheries, Kochi University*, vol. 14, pp. 49-55, 1994.
- [152] R. Tuvikene, K. Truus, M. Vaher, T. Kailas, G. Martin e P. Kersen, "Extraction and quantification of hybrid carrageenans from the biomass of the red algae *Furcellaria lumbricalis* and *Coccotylus truncatus*," *Proceedings of the Estonian Academy of Sciences. Chemistry*, vol. 55, p. 40–53, 2006.
- [153] K. Prasad, Y. Kaneko e J.-i. Kadokawa, "Novel Gelling Systems of k-, i- and l Carrageenans and their Composite Gels with Cellulose Using Ionic Liquid," *Macromolecular Bioscience*, vol. 9, p. 376–382, 2009.
- [154] L. Pereira, A. Sousa, H. Coelho, A. M. Amado e P. J. Ribeiro-Claro, "Use of FTIR, FT-Raman and ¹³C-NMR spectroscopy for identification of some seaweed phycocolloids," *Biomolecular Engineering*, vol. 20, pp. 223-228, 2003.
- [155] M. Robitzer, F. Di Renzo e F. Quignard, "Natural materials with high surface area. Physisorption methods for the characterization of the texture and surface of polysaccharide aerogels," *Microporous and Mesoporous Materials*, vol. 140, pp. 9-16, 2011.
- [156] M. Robitzer, A. Tourrette, R. Horga, R. Valentin, M. Boissière, J. M. Devoisselle, F. D. Renzo e F. Quignard, "Nitrogen sorption as a tool for the characterisation of polysaccharide aerogels," *Carbohydrate Polymers*, vol. 85, p. 44–53, 2011.
- [157] R. Valentin, R. Horga, B. Bonelli, E. Garrone, F. D. Renzo e F. Quignard, "Acidity of Alginate Aerogels Studied by FTIR Spectroscopy of Probe Molecules," *Macromolecular Symposia*, vol. 230, p. 71–77, 2005.
- [158] C. Tsiouas, C. Michailof, G. Stauroopoulos e C. Panayiotou, "Chitin and carbon aerogels from chitin alcogels," *Carbohydrate Polymers*, vol. 76, p. 535–540, 2009.
- [159] X. Chang, D. Chen e X. Jiao, "Chitosan-Based Aerogels with High Adsorption Performance," *Journal of Physical Chemistry B*, vol. 112, p. 7721–7725, 2008.
- [160] S. F. Soares, T. Trindade e A. L. Daniel-da-Silva, "Carrageenan–Silica Hybrid Nanoparticles Prepared by a Non-Emulsion Method," *European Journal of Inorganic Chemistry*, p. 4588–4594, 2015.
- [161] Drugs.com, "Theophylline Dosage," [Online]. Available: https://www.drugs.com/dosage/theophylline.html#Usual_Adult_Dose_for_Asthma___Maintenance. [Acedido em 17 Março 2018].
- [162] X. Huang e C. S. Brazel, "On the importance and mechanisms of burst release in matrix-controlled drug delivery systems," *Journal of Controlled Release*, vol. 73, p. 121–136, 2001.
- [163] P. Sriamornsak, S. Prakongpan, S. Puttipatkhachorn e R. A. Kennedy, "Development of sustained release theophylline pellets coated with calcium pectinate," *Journal of Controlled Release*, vol. 47, p. 221–232, 1997.
- [164] B. C. Thanoo, M. C. Sunny e A. Jayakrishnan, "Cross-linked Chitosan Microspheres: Preparation and Evaluation as a Matrix for the Controlled Release of Pharmaceuticals," *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, vol. 44, pp. 283-286, 1992.
- [165] J. Liu, S. Lin, L. Li e E. Liu, "Release of theophylline from polymer blend hydrogels," *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 298, p. 117–125, 2005.

- [166] M. Nakano e A. Ogata, "Examination of Natural Gums as Matrices for Sustained Release of Theophylline," *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, vol. 32, pp. 782-785, 1984.
- [167] V. K. Gupta, M. Hariharan, T. A. Wheatley e J. C. Price, "Controlled-release tablets from carrageenans: effect of formulation, storage and dissolution factors," *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, vol. 51, pp. 241-248, 2001.
- [168] K. M. Picker, "Matrix Tablets of Carrageenans. II. Release Behavior and Effect of Added Cations," *Drug Development and Industrial Pharmacy*, vol. 25, p. 339-346, 1999.
- [169] A. Veronovski, G. Tkalec, Z. Knez e Z. Novak, "Characterisation of biodegradable pectin aerogels and their potential use as drug carriers," *Carbohydrate Polymers*, vol. 113, p. 272-278, 2014.
- [170] A. Veronovski, Z. Knez e Z. Novak, "Comparison of ionic and non-ionic drug release from multi-membrane spherical aerogels," *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 454, p. 58-66, 2013.
- [171] N. L. Rosario e E. S. Ghaly, "Matrices of Water-Soluble Drug Using Natural Polymer and Direct Compression Method," *Drug Development and Industrial Pharmacy*, vol. 28, p. 975-988, 2002.
- [172] Drugs.com, "Tetracycline Dosage," [Online]. Available: https://www.drugs.com/dosage/tetracycline.html#Usual_Adult_Dose_for_Pneumonia. [Acedido em 15 Março 2018].
- [173] S. Jiang, J. Lv, M. Ding, Y. Li, H. Wang e S. Jiang, "Release behavior of tetracycline hydrochloride loaded chitosan/poly(lactic acid) antimicrobial nanofibrous membranes," *Materials Science & Engineering C*, 2015.
- [174] M. E. El-Naggar, A. M. Abdelgawad, C. Salas e O. J. Rojas, "Curdlan in fibers as carriers of tetracycline hydrochloride: controlled release and antibacterial activity," *Carbohydrate Polymers*, 2016.
- [175] S. Maya, S. Indulekha, V. Sukhithasri, K. Smitha, S. V. Nair, R. Jayakumar e R. Biswas, "Efficacy of tetracycline encapsulated O-carboxymethyl chitosan nanoparticles against intracellular infections of *Staphylococcus aureus*," *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 51, p. 392-399, 2012.
- [176] S. Govender, V. Pillay, D. J. Chetty, S. Y. Essack, C. M. Dangor e T. Govender, "Optimisation and characterisation of bioadhesive controlled release tetracycline microspheres," *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 306, p. 24-40, 2005.
- [177] W. Shao, H. Liu, S. Wang, J. Wu, M. Huang, H. Min e X. Liu, "Controlled release and antibacterial activity of tetracycline hydrochloride-loaded bacterial cellulose composite membranes," *Carbohydrate Polymers*, 2016.
- [178] B. Fonseca-Santos e M. Chorilli, "An overview of carboxymethyl derivatives of chitosan: Their use as biomaterials and drug delivery systems," *Materials Science & Engineering C*, 2017.
- [179] "The Five Different Forms of Carrageenan and its Significance in Industrial Applications," Altrafine Gums, 16 Novembro 2014. [Online]. Available: <https://www.altrafine.com/blog/the-five-different-forms-of-carrageenan-and-its-significance-in-industrial-applications/>. [Acedido em 14 Junho 2017].
- [180] FAO, "Chapter III: Properties, Manufacture and Application of Seaweed Polysaccharides - Agar, Carrageenan and Algin," Agosto 1990. [Online]. Available:

<http://www.fao.org/docrep/field/003/AB730E/AB730E03.htm>. [Acedido em 12 Junho 2017].

6. Anexos

6.1. Processo industrial de extracção de κ -car

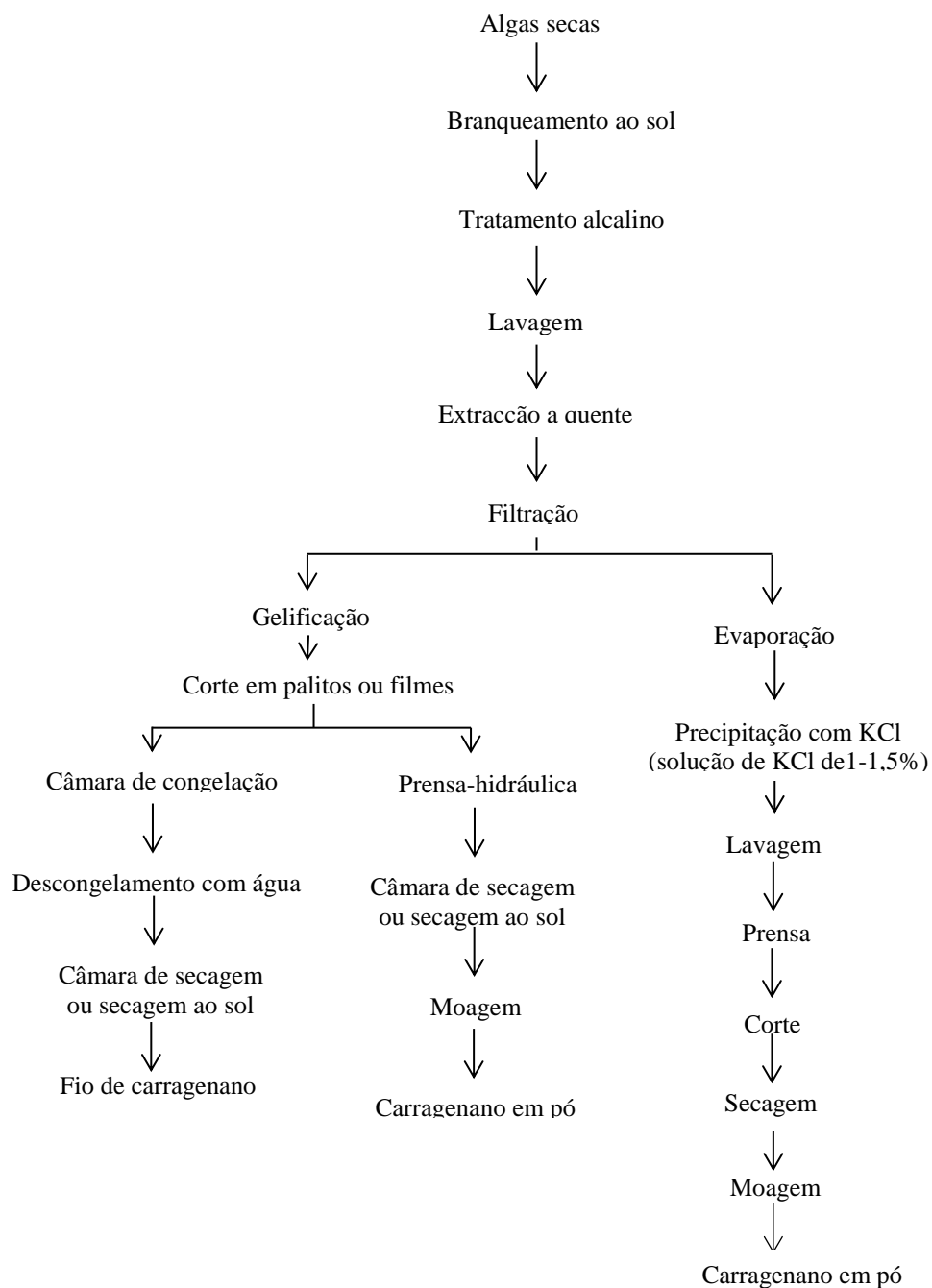


Figura 6.1 - Extracção do κ -car (adaptado de: [180]).

6.2. Síntese de [bmim][Ac]

O LI [bmim][Ac] foi sintetizado a partir do [bmim][Cl], fornecido pela Solchemar, uma start-up da FCT/UNL.

A síntese do LI foi realizado pelo processo de troca de aniónica entre o anião do [bmim][Cl] e do acetato de sódio anidro (CH_3COONa), originando o LI pretendido [bmim][Ac] e cloreto de sódio (NaCl).

O acetato de sódio foi adicionado em 1,1 equivalentes ao [bmim][Cl], em seguida foi adicionado etanol à mistura e foi colocada sob agitação durante uma/duas noite(s). Após esse tempo o cloreto de sódio encontra-se precipitado a mistura é filtrada (lavando com etanol) e no filtrado é adicionado sulfato de magnésio anidro para retirar alguma presença de água. A mistura é novamente filtrada (lavada novamente com etanol) e em seguida o etanol é evaporado no evaporador rotativo, obtendo-se assim o [bmim][Ac].

6.3. Processo de extracção realizado em laboratório

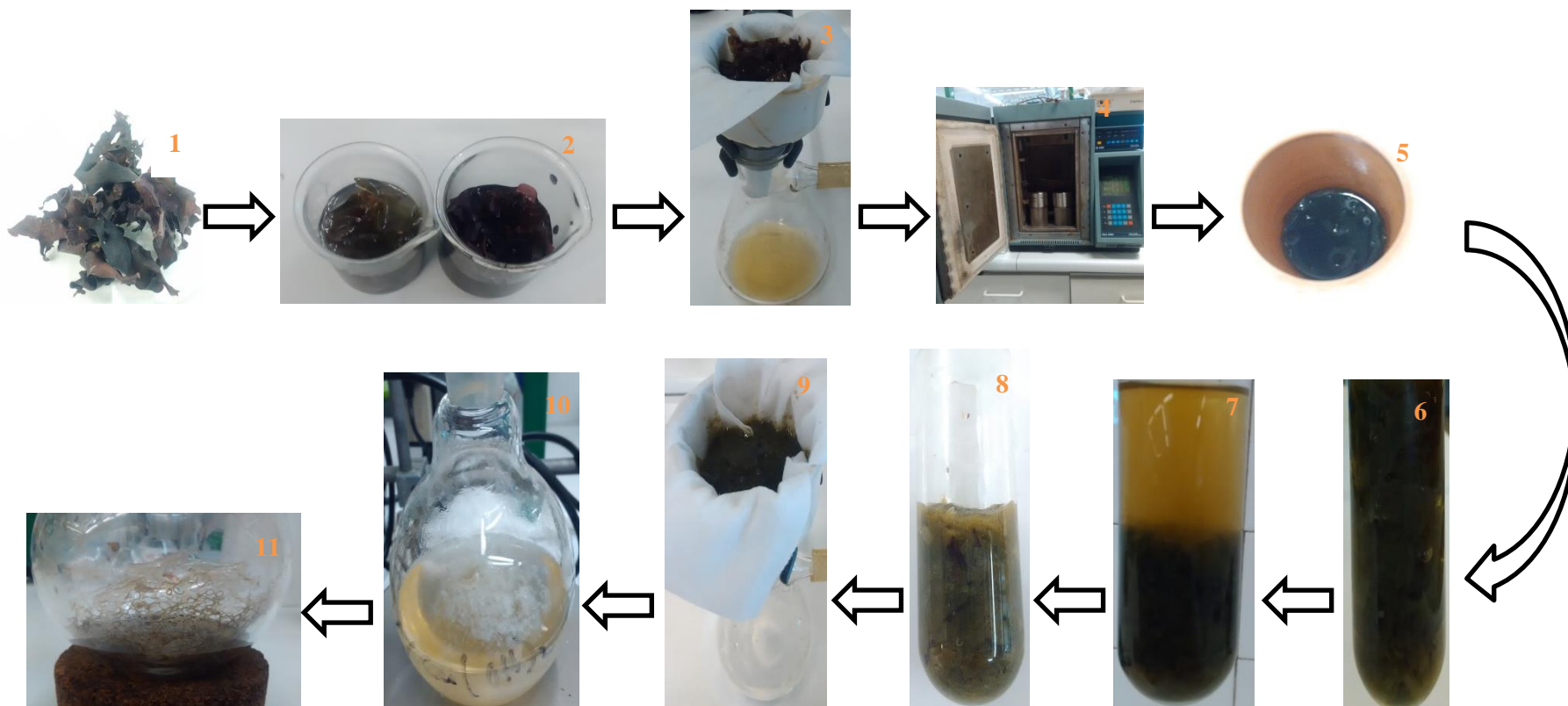


Figura 6.2 - Esquema referente à extracção do carragenano realizada em laboratório.

6.4. Folha de especificação da alga *musgo irlandês*, utilizada



Figura 6.3 - Embalagem da alga utilizada na extracção do carragenano.

6.5. Dimensões dos Hidrogéis e dos Aerogéis e perda de volume do Aerogéis.

Tabela 6.1 - Dimensões dos Hidrogéis e Aerogéis [2%κ-car]:[KSCN].

Géis [2%κ-car]:[KSCN]											
Hidrogel						Aerogel					
Amostra	Altura (mm)	Diâmetro (mm)	Volume (mm ³)	Volume médio (mm ³)	Desvio padrão absoluto do volume (mm ³)	Amostra	Altura (mm)	Diâmetro (mm)	Volume (mm ³)	Volume perdido (mm ³)	% de volume perdido
1	15,50	8,40	858,97	828,81	112,93	1	6,80	3,70	73,11	755,70	91,18
2	15,60	8,50	885,22								
3	11,40	8,60	662,20								
4	16,40	8,40	908,85								

Tabela 6.2 - Dimensões dos Hidrogéis e Aerogéis [2%κ-car]:[KCl].

Géis [2%κ-car]:[KCl]													
Hidrogel						Aerogel							
Amostra	Altura (mm)	Diâmetro (mm)	Volume (mm ³)	Volume médio (mm ³)	Desvio padrão absoluto do volume (mm ³)	Amostra	Altura (mm)	Diâmetro (mm)	Volume (mm ³)	Volume médio (mm ³)	Desvio padrão absoluto do volume (mm ³)	Volume perdido (mm ³)	% de volume perdido
1	14,00	7,7	651,93	629,67	49,87	1	7,60	4,25	107,82	86,08	24,43	543,59	86,33
2	13,50	8,05	687,09			2	6,40	4,25	90,79				
3	14,10	7,2	574,08			3	5,40	3,75	59,64				
4	12,20	7,95	605,60										

Tabela 6.3 - Dimensões dos Hidrogéis e Aerogéis [2%κ-car]:[bmim][Cl].

Géis [2%κ-car]:[bmim][Cl]											
Hidrogel						Aerogel					
Amostra	Altura (mm)	Diâmetro (mm)	Volume (mm ³)	Volume médio (mm ³)	Desvio padrão absoluto do volume (mm ³)	Amostra	Altura (mm)	Diâmetro (mm)	Volume (mm ³)	Volume perdido (mm ³)	% de volume perdido
1	3,20	18,20	832,50								
2	4,10	16,80	908,85	828,99	81,66	1	3,40	10,90	317,26	511,73	61,73
3	3,10	17,50	745,64								

Tabela 6.4 - Dimensões dos Hidrogéis e Aerogéis [10%κ-car]:[bmim][Cl].

Géis de [10%κ-car]:[bmim][Cl]													
Hidrogel						Aerogel							
Amostra	Altura (mm)	Diâmetro (mm)	Volume (mm ³)	Volume médio (mm ³)	Desvio padrão absoluto do volume (mm ³)	Amostra	Altura (mm)	Diâmetro (mm)	Volume (mm ³)	Volume médio (mm ³)	Desvio padrão absoluto do volume (mm ³)	Volume perdido (mm ³)	% de volume perdido
1	3,90	17,65	954,21			1	3,70	12,15	428,99	312,55	164,67	557,17	64,06
2	3,73	16,80	827,57	869,72	73,17	2	2,77	9,50	196,11				
3	3,80	16,65	827,37										

Tabela 6.5 - Dimensões dos Hidrogéis e Aerogéis [2%κ-car]:[bmim][Ac].

Géis de [2%κ-car]:[bmim][Ac]													
Hidrogel						Aerogel							
Amostra	Altura (mm)	Diâmetro (mm)	Volume (mm ³)	Volume médio (mm ³)	Desvio padrão absoluto do volume (mm ³)	Amostra	Altura (mm)	Diâmetro (mm)	Volume (mm ³)	Volume médio (mm ³)	Desvio padrão absoluto do volume (mm ³)	Volume perdido (mm ³)	% de volume perdido
1	3,17	18,10	814,80			1	2,17	12,20	253,28				
2	3,37	19,05	959,58	950,79	131,81	2	2,90	13,60	421,28	337,28	118,79	613,51	64,53
3	3,93	18,70	1077,99										

Tabela 6.6 - Dimensões dos Hidrogéis e Aerogéis [10%κ-car]:[bmim][Ac].

Géis [10%κ-car]:[bmim][Ac]											
Hidrogel						Aerogel					
Amostra	Altura (mm)	Diâmetro (mm)	Volume (mm ³)	Volume médio (mm ³)	Desvio padrão absoluto do volume (mm ³)	Amostra	Altura (mm)	Diâmetro (mm)	Volume (mm ³)	Volume perdido (mm ³)	% de volume perdido
1	4,48	17,80	1113,58								
2	4,10	19,15	1180,90	1144,75	33,93	1	2,73	12,80	351,72	793,03	69,28
3	4,15	18,70	1139,78								

6.6. Espectroscopia de FTIR

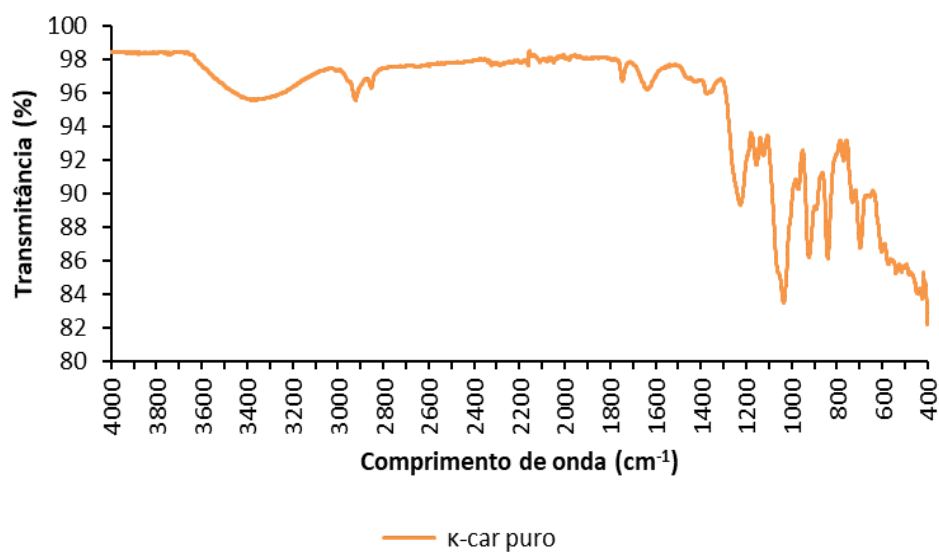


Figura 6.4 - Espectro de FTIR do κ-car puro.

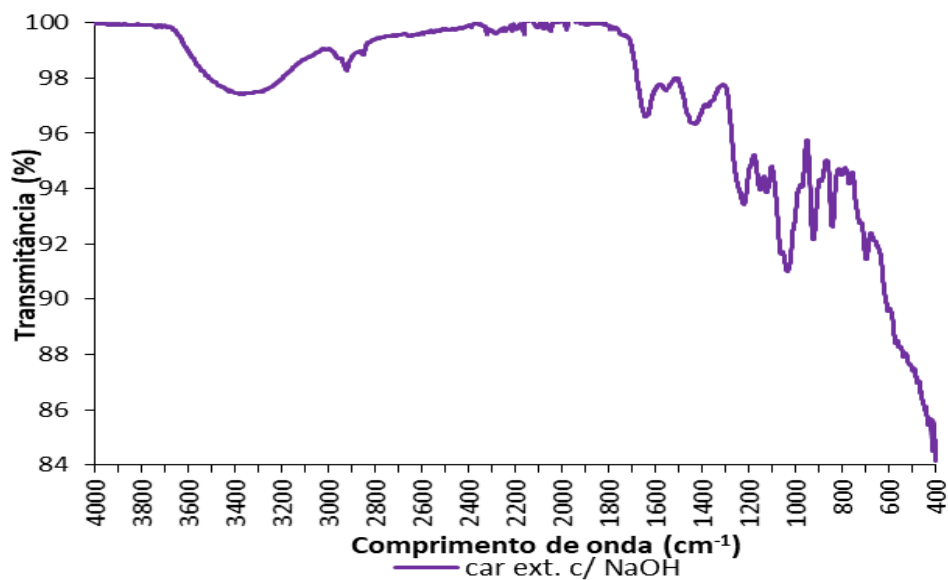


Figura 6.5 - Espectro de FTIR do κ-car extraído com NaOH (0,5%).

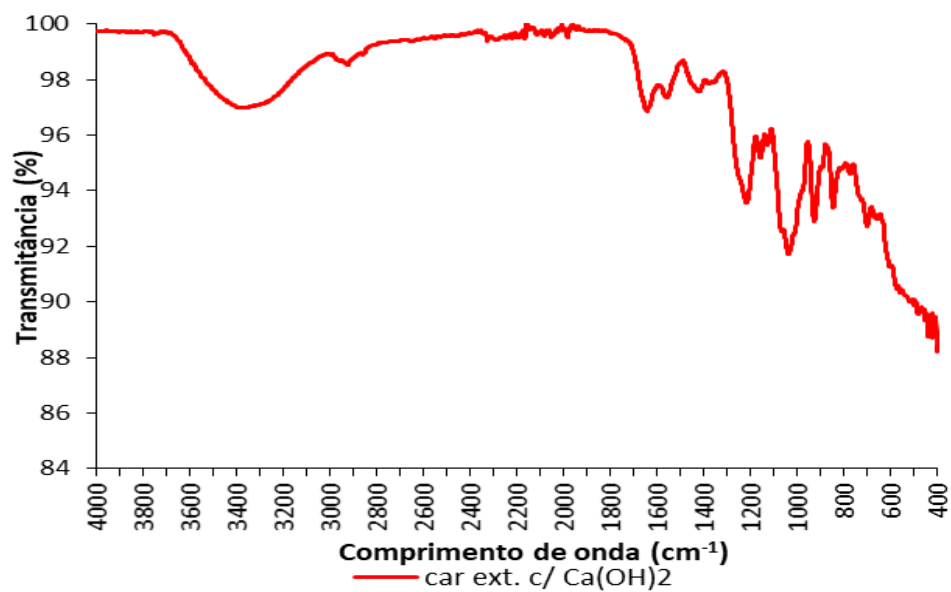


Figura 6.6 - Espectro de FTIR do κ -car extraído com Ca(OH)_2 (0,5%).

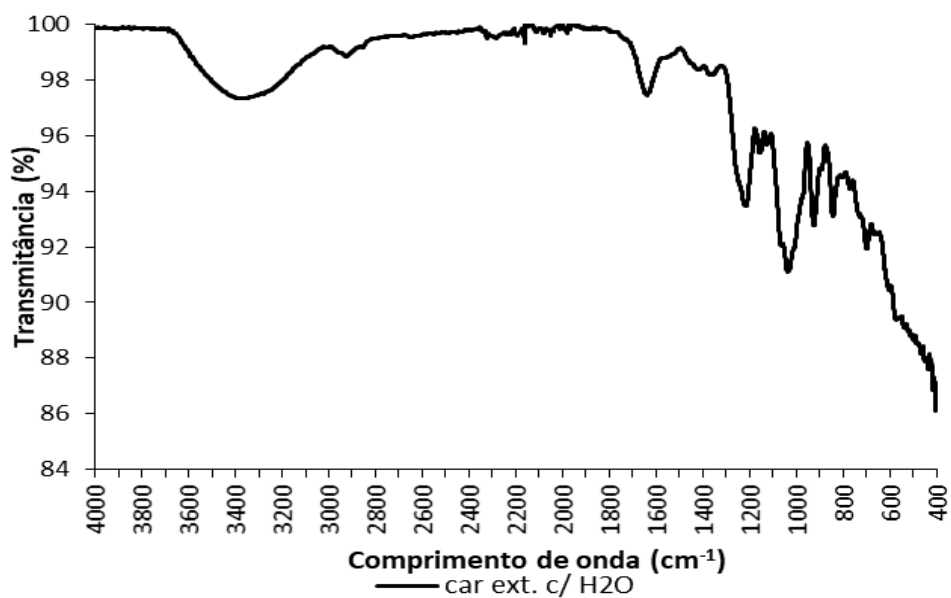


Figura 6.7 - Espectro de FTIR do κ -car extraído com H_2O .

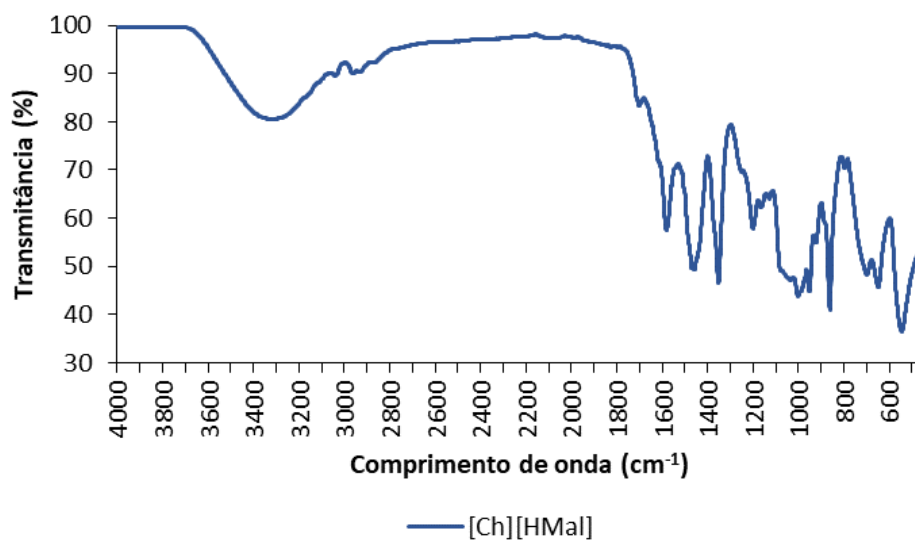


Figura 6.8 - Espectro de FTIR do LI [Ch][HMal].

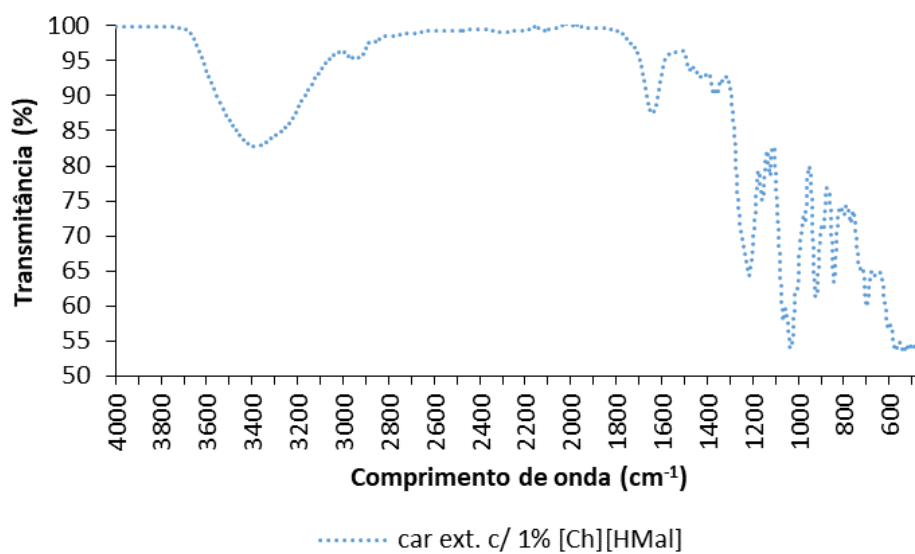


Figura 6.9 - Espectro de FTIR do κ-car extraído com 1% de [Ch][HMal].

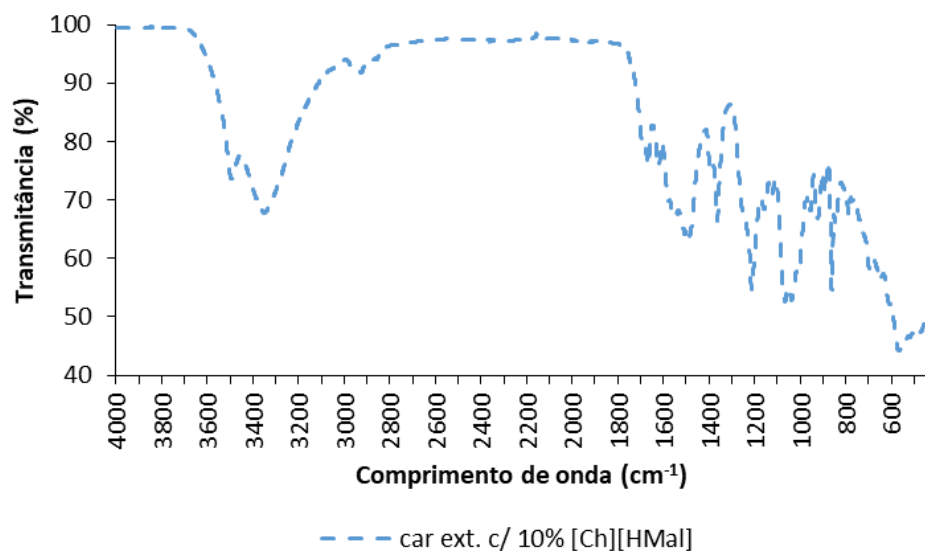


Figura 6.10 - Espectro de FTIR do κ -car extraído com 10% de [Ch][HMal].

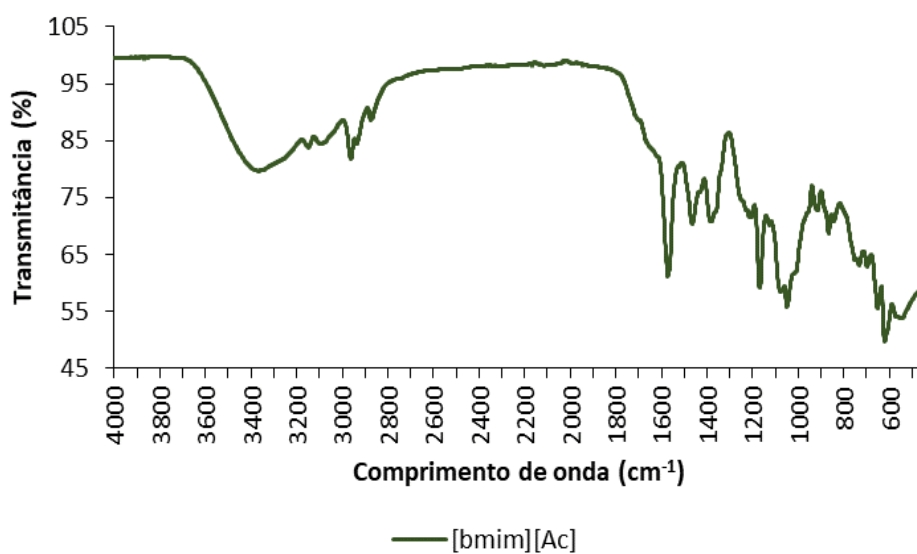


Figura 6.11 - Espectro de FTIR do LI [bmim][Ac].

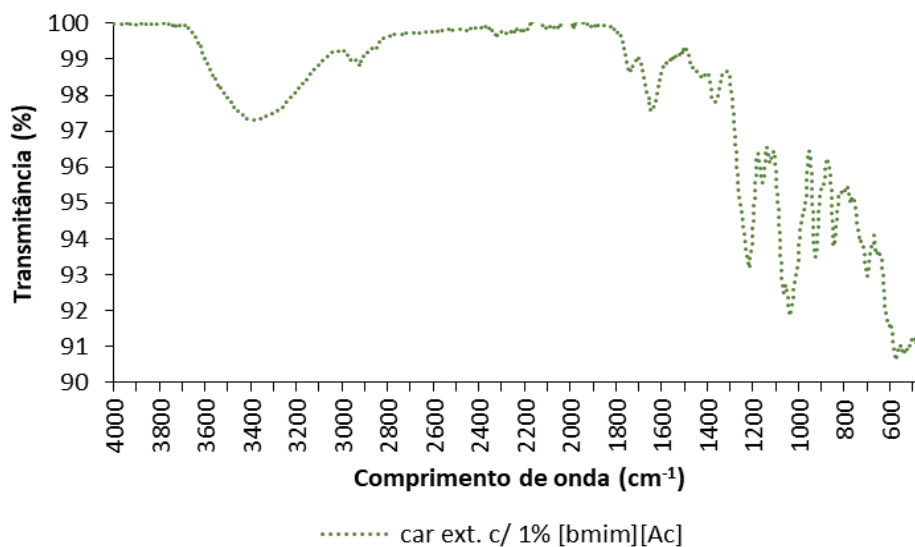


Figura 6.12 - Espectro de FTIR do κ -car extraído com 1% de [bmim][Ac].

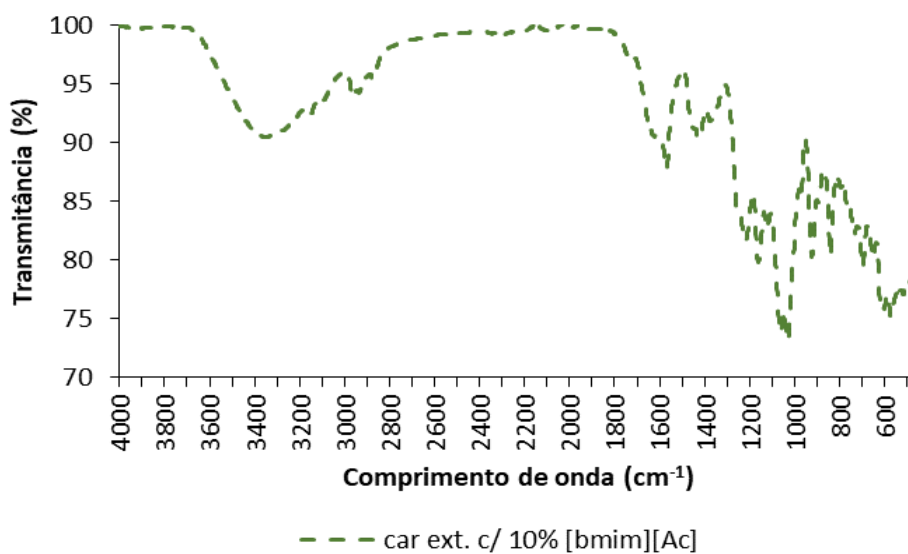


Figura 6.13 - Espectro de FTIR do κ -car extraído com 10% de [bmim][Ac].

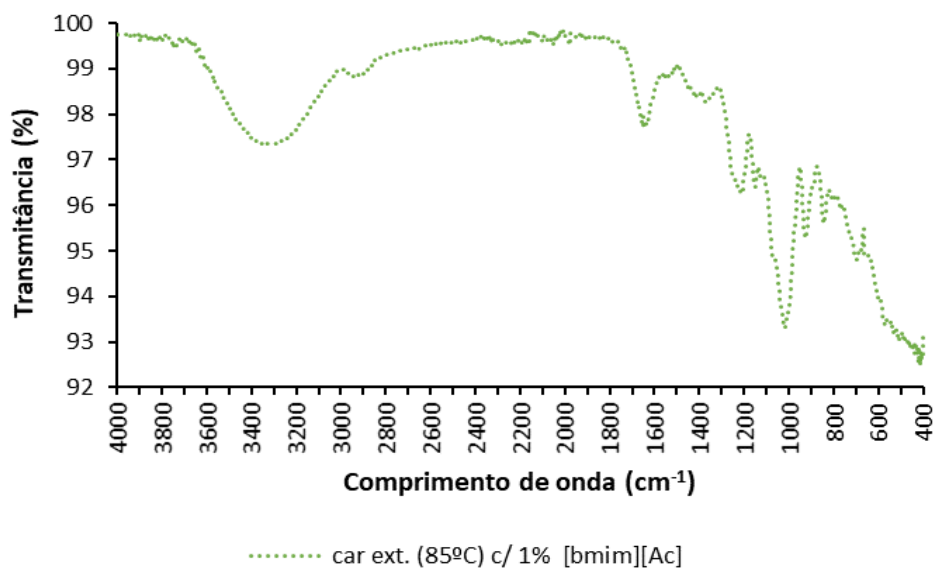


Figura 6.14 - Espectro de FTIR do κ -car extraído fora da autoclave à T=85°C com 1% de [bmim][Ac].



Figura 6.15 - Espectro de FTIR do κ -car extraído fora da autoclave à T=85°C com 10% de [bmim][Ac].

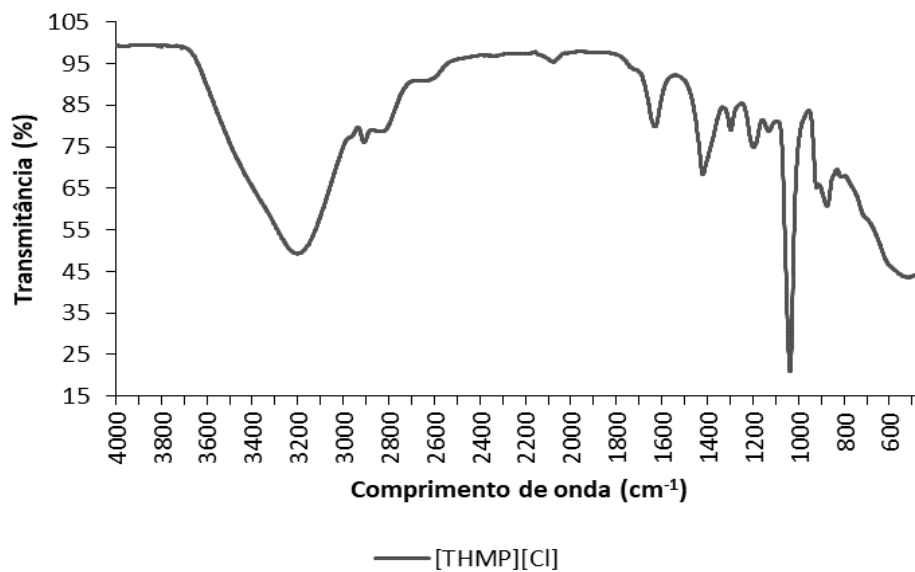


Figura 6.16 - Espectro de FTIR do LI [THMP][Cl].

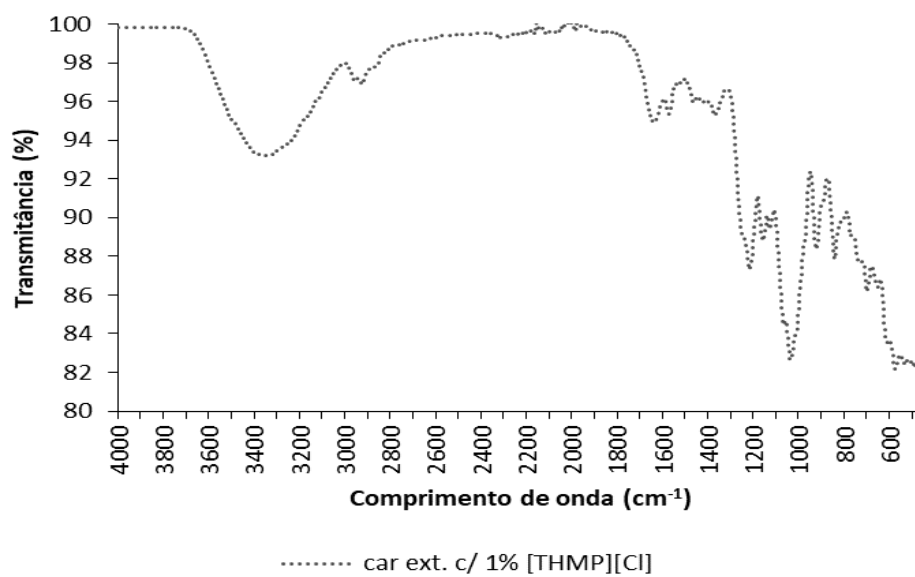


Figura 6.17 - Espectro de FTIR do κ-car extraído com 1% de [THMP][Cl].

Tabela 6.7 - Comprimentos de onda referentes às bandas mais relevantes da análise de FTIR, realizada ao κ -car puro e ao carragenano extraído com os diferentes solventes.

Amostra				Comprimento de onda (cm ⁻¹)						
κ-car puro				1227		1036		924		841
car ext. c/ NaOH				1223		1037		925		844
car ext. c/ Ca(OH) ₂				1213		1035		925		843
car ext. c/ H ₂ O				1218		1036		925		843
car ext. c/ 1% [Ch][HMal]				1216		1035		923		844
car ext. c/ 10% [Ch][HMal]	1573	1479	1364	1213		1037	954	923	861	844
[Ch][HMal]	1582	1463	1353				952		862	
car ext. c/ 1% [bmim][Ac]				1217		1036		926		843
car ext. c/ 10% [bmim][Ac]	1574	1428		1218	1162	1034		925		841
[bmim][Ac]	1574	1465	1382		1169	1049				
car ext. (85°C) c/1% [bmim][Ac]				1215		1019		926		843
car ext. (85°C) c/10% [bmim][Ac]				1217		1037		926		843
car ext. c/1% [THMP][Cl]				1216		1035		923		843
[THMP][Cl]	1633	1420	1298		1198	1037				

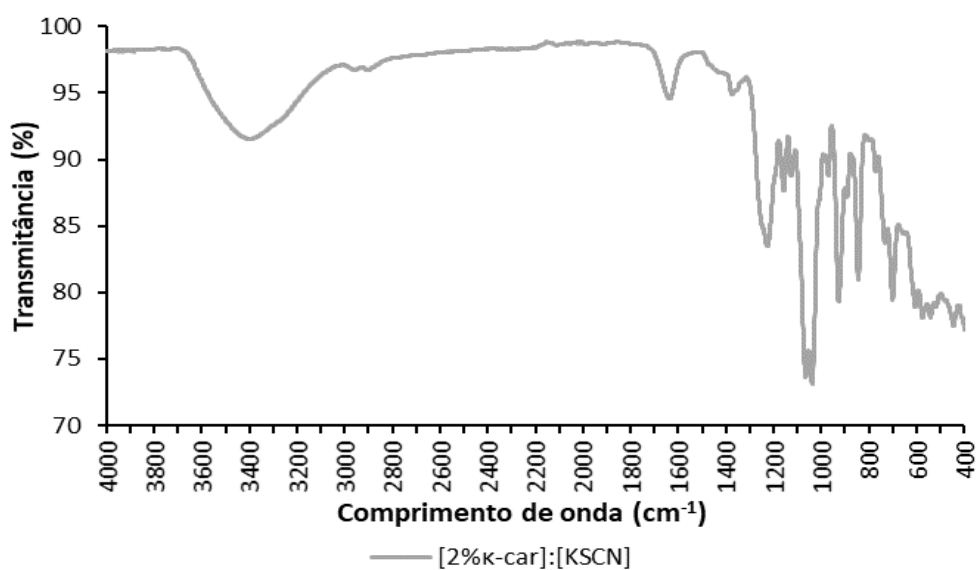


Figura 6.18 - Espectro de FTIR do aerogel de 2% (m/v) de κ -car em água, com adição de KSCN 0,6M.

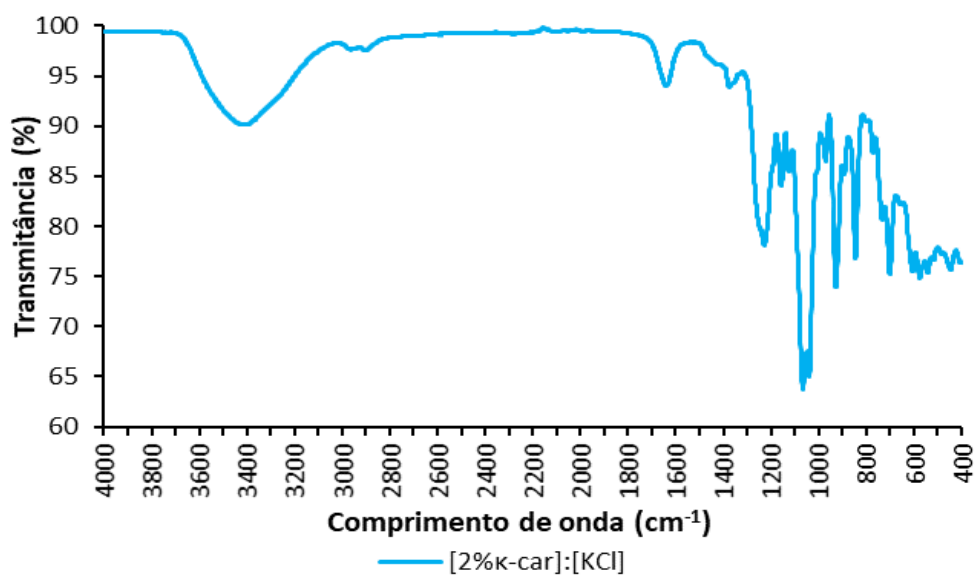


Figura 6.19 - Espectro de FTIR do aerogel de 2% (m/v) de κ -car em água, com adição de KCl 0,6M.

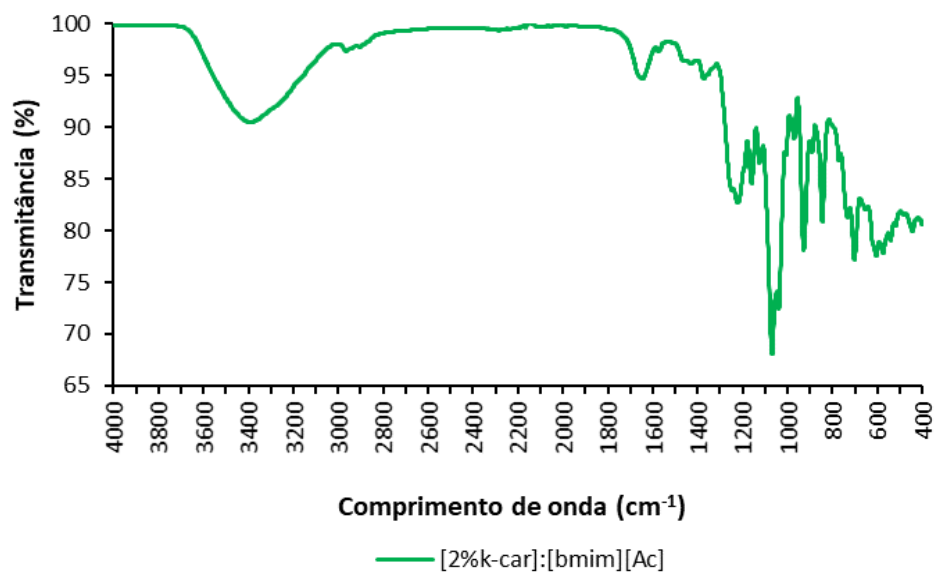


Figura 6.20 - Espectro de FTIR do aerogel de 2% (m/m) de κ -car por dissolução em [bmim][Ac].

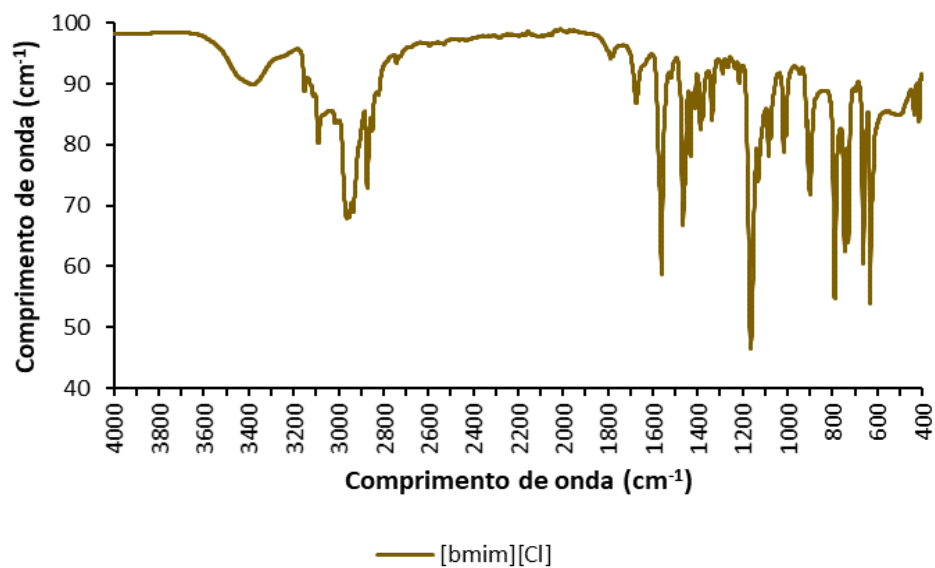


Figura 6.21 - Espectro de FTIR do LI [bmim][Cl].

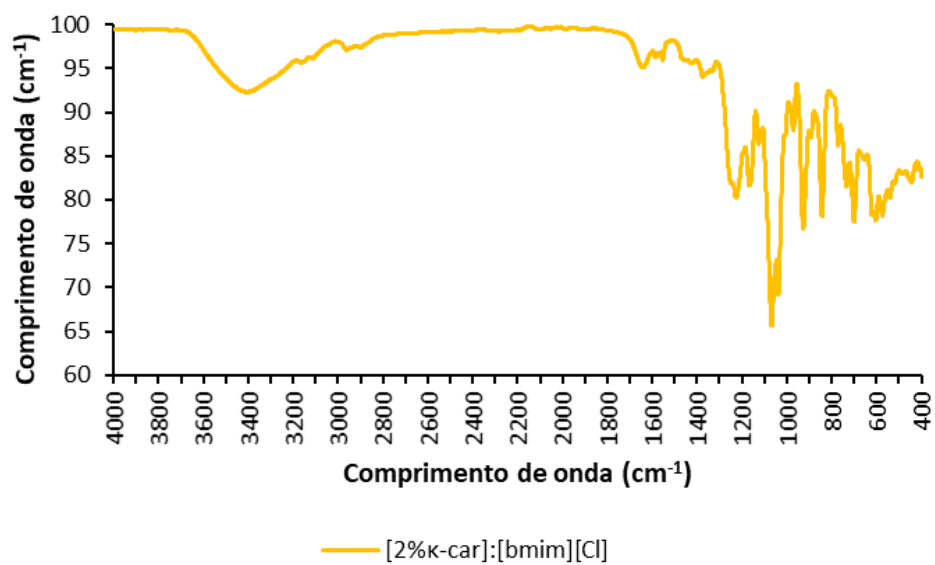


Figura 6.22 - Espectro de FTIR do aerogel de 2% (m/m) de κ-car por dissolução em [bmim][Cl].

6.7. DSC

Encontram-se neste anexo os resultados de DSC realizados ao κ -car puro e aos vários LIs usados na extracção do carragenano e na formação dos aerogéis de κ -car.

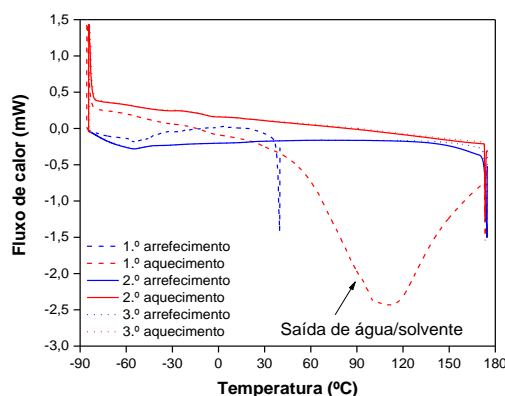


Figura 6.23 - DSC do κ -car puro.

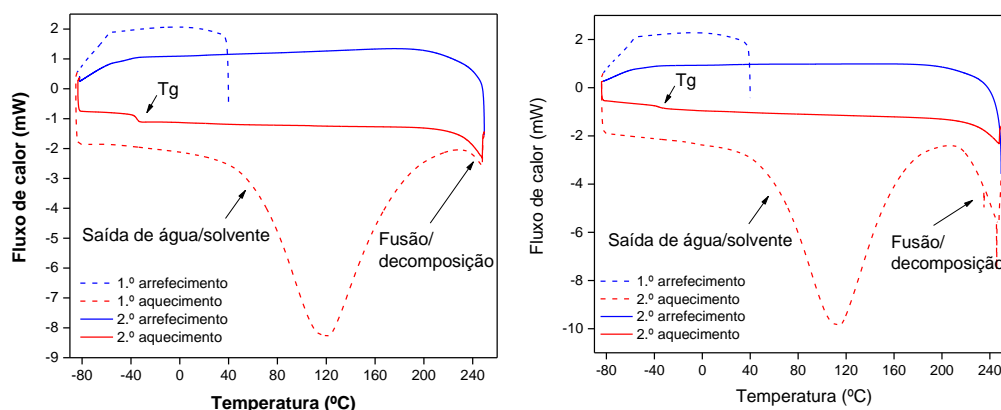


Figura 6.24 - DSC do LI: [bmim][Ac] (à esquerda) e [bmim][Cl] (à direita).

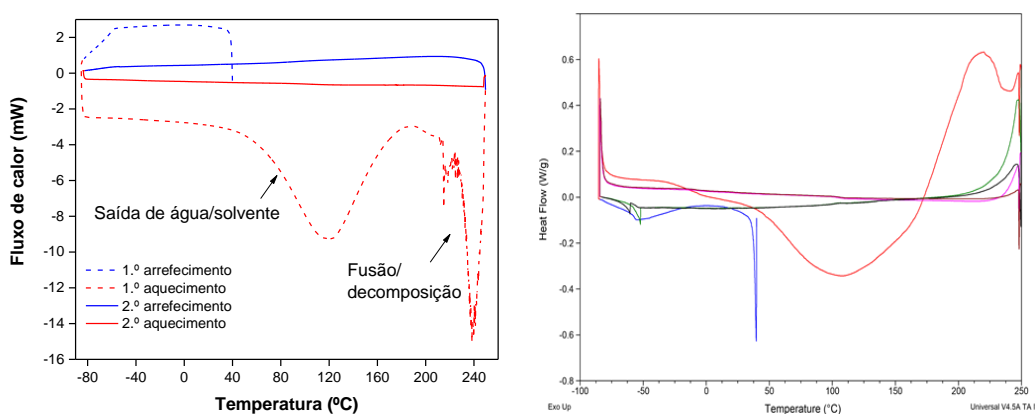


Figura 6.25 - DSC do LI: [Ch][HMal] (à esquerda) e [THMP][Cl] (à direita).

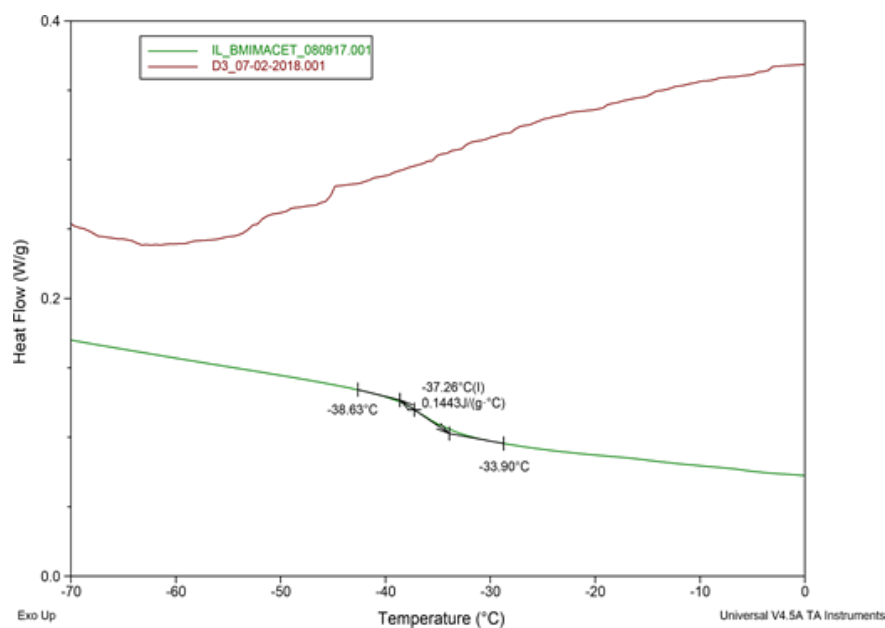


Figura 6.26 - Excerto dos termogramas (1ª ciclo de aquecimento) do aerogel [2%κ-car]:[bmim][Ac] (vermelho) e do [bmim][Ac] (verde) para análise da ocorrência da temperatura de transição vítrea (T_g).

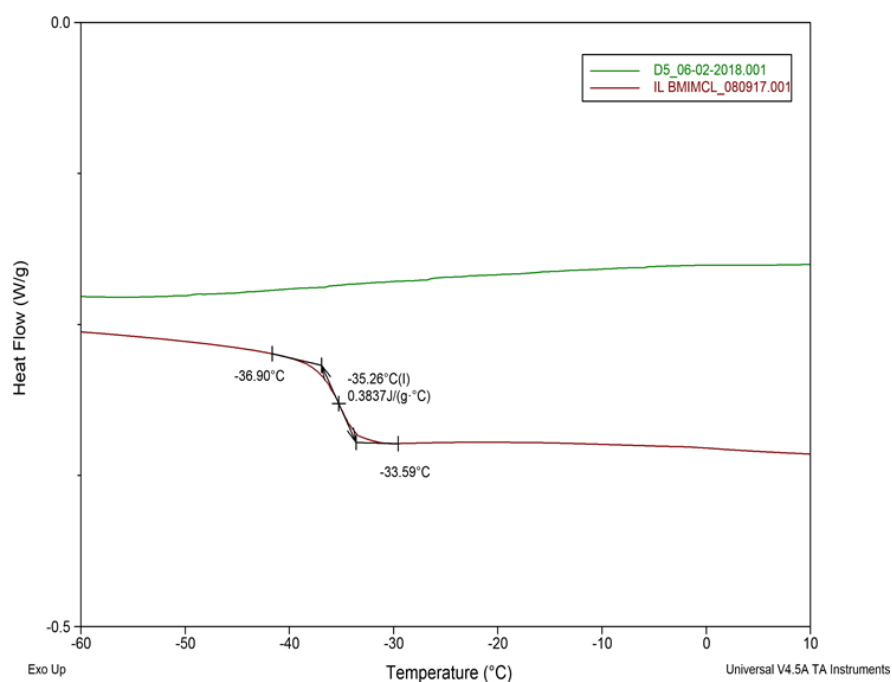


Figura 6.27 - Excerto dos termogramas (1º ciclo de aquecimento) do aerogel [2%κ-car]:[bmim][Cl] (verde) e do [bmim][Cl] (vermelho), para análise da ocorrência de temperatura de transição vítrea (T_g).

6.8. TGA

Neste anexo estão presentes os gráficos da derivada para os termogramas obtidos por TGA para cada aerogel de κ -car e para o κ -car puro, que permitiram o auxílio no cálculo do intervalo de temperatura em que ocorre cada patamar e sua respectiva percentagem de perda de massa.

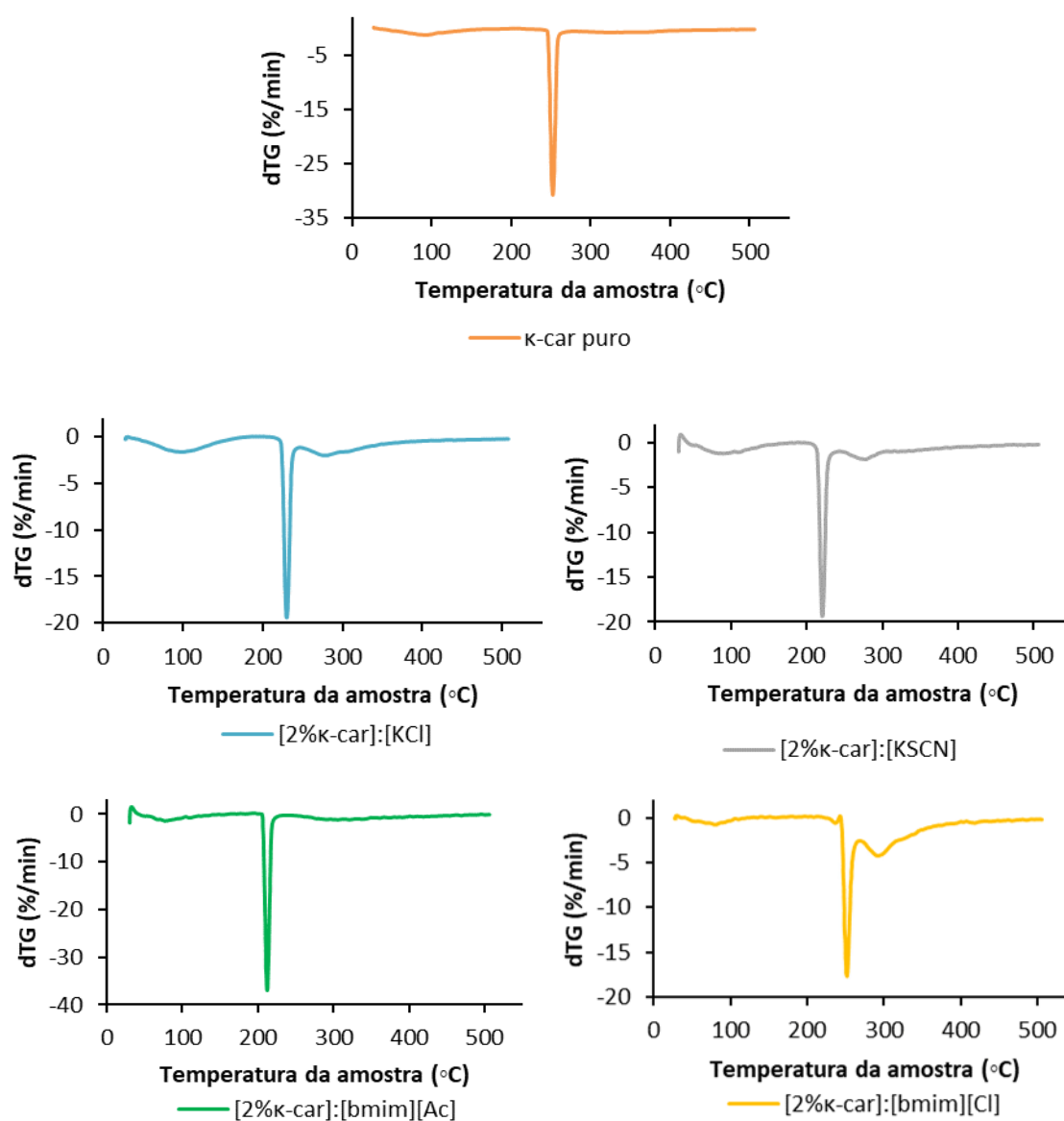


Figura 6.28 - Curvas referentes à 1ª derivada do termograma obtido por TGA para o κ -car puro e para os aerogéis [2% κ -car]:[KCl], [2% κ -car]:[KSCN], [2% κ -car]:[bmim][Ac] e [2% κ -car]:[bmim][Cl].

6.9. Retas de calibração – Ensaios de liberação dos fármacos

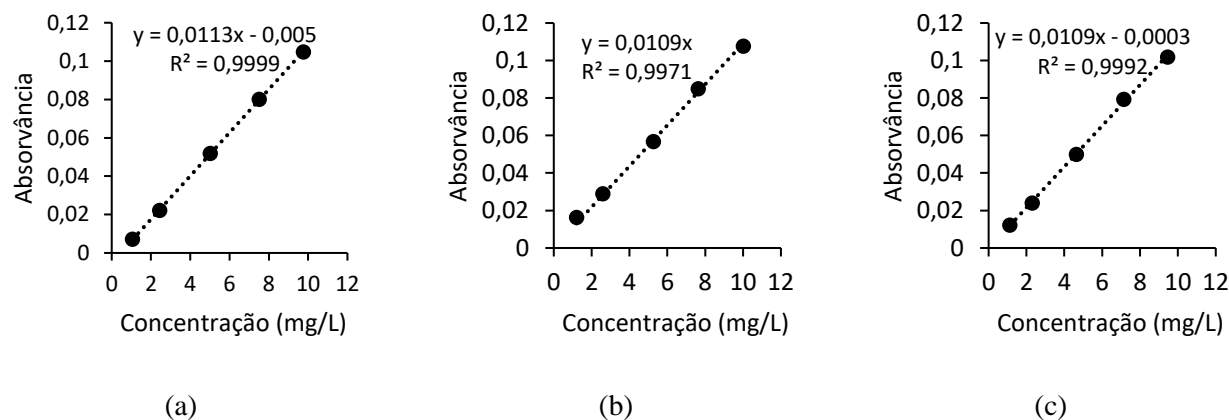


Figura 6.29 - Retas de calibração utilizadas no cálculo da concentração de Teofilina libertada a partir dos vários aerogéis: (a) $[2\%\kappa\text{-car}]:[\text{bmim}][\text{Ac}]_{\text{tf}}$; (b) $[2\%\kappa\text{-car}]:[\text{bmim}][\text{Ac}]_{\text{tfscCO}_2}$; (c) $[2\%\kappa\text{-car}]:[\text{KCl}]_{\text{tf}}$.

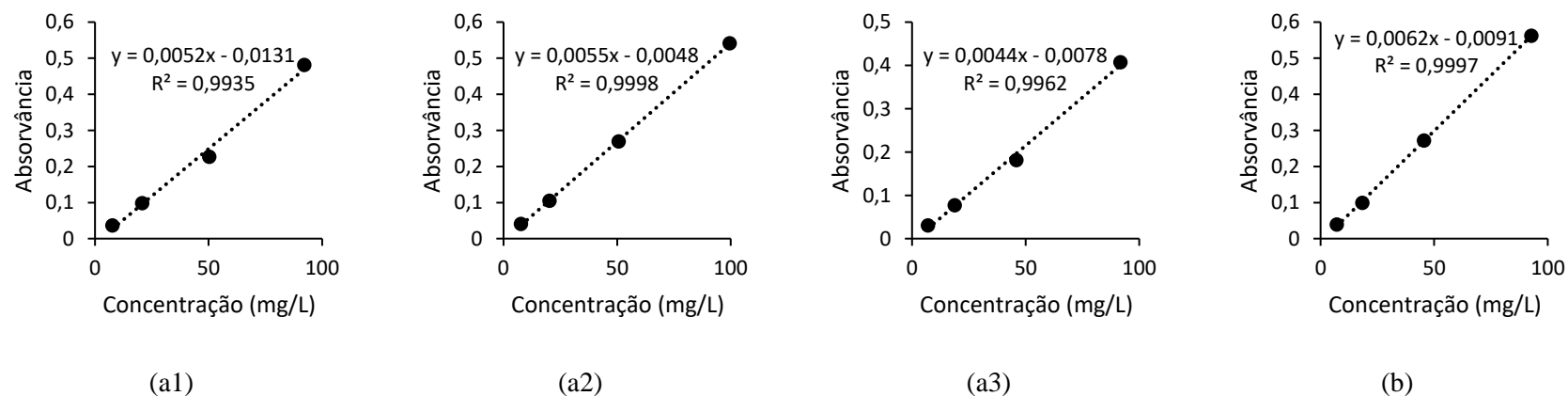
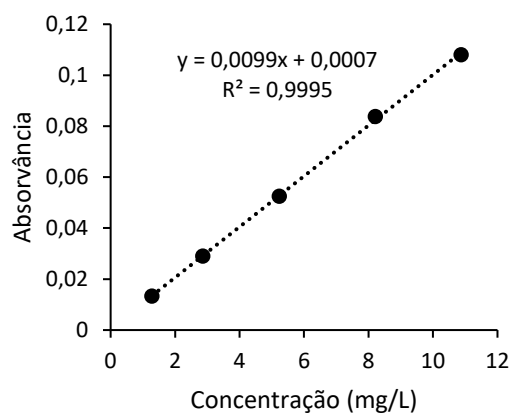
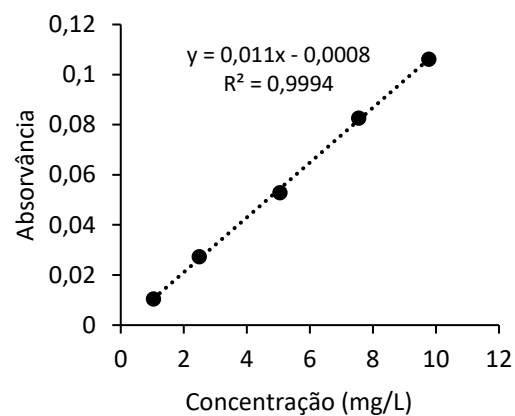


Figura 6.30 - Retas de calibração utilizadas no cálculo da concentração de Tetraciclina libertada a partir dos vários aerogéis: $[2\%\kappa\text{-car}]:[\text{bmim}][\text{Ac}]_{\text{ic}}$: Ensaio 1(a1), Ensaio (a2), Ensaio 3 (a3); (b) $[2\%\kappa\text{-car}]:[\text{KCl}]_{\text{ic}}$.

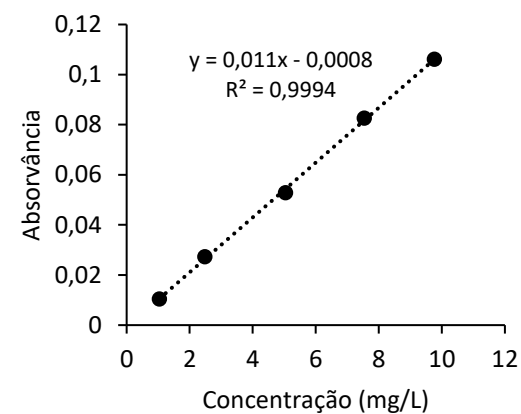
6.10. Retas de calibração – Determinação do total (teofilina)



(a)



(b)



(c)

Figura 6.31 - Retas de calibração utilizadas no cálculo da concentração total de Teofilina libertada a partir dos vários aerogéis: (a) [2%κ-car]:[bmim][Ac]_{tf}; (b) [2%κ-car]:[bmim][Ac]_{tfscCO₂}; (c) [2%κ-car]:[KCl]_{tf}.

6.11. Gráficos dos modelos cinéticos

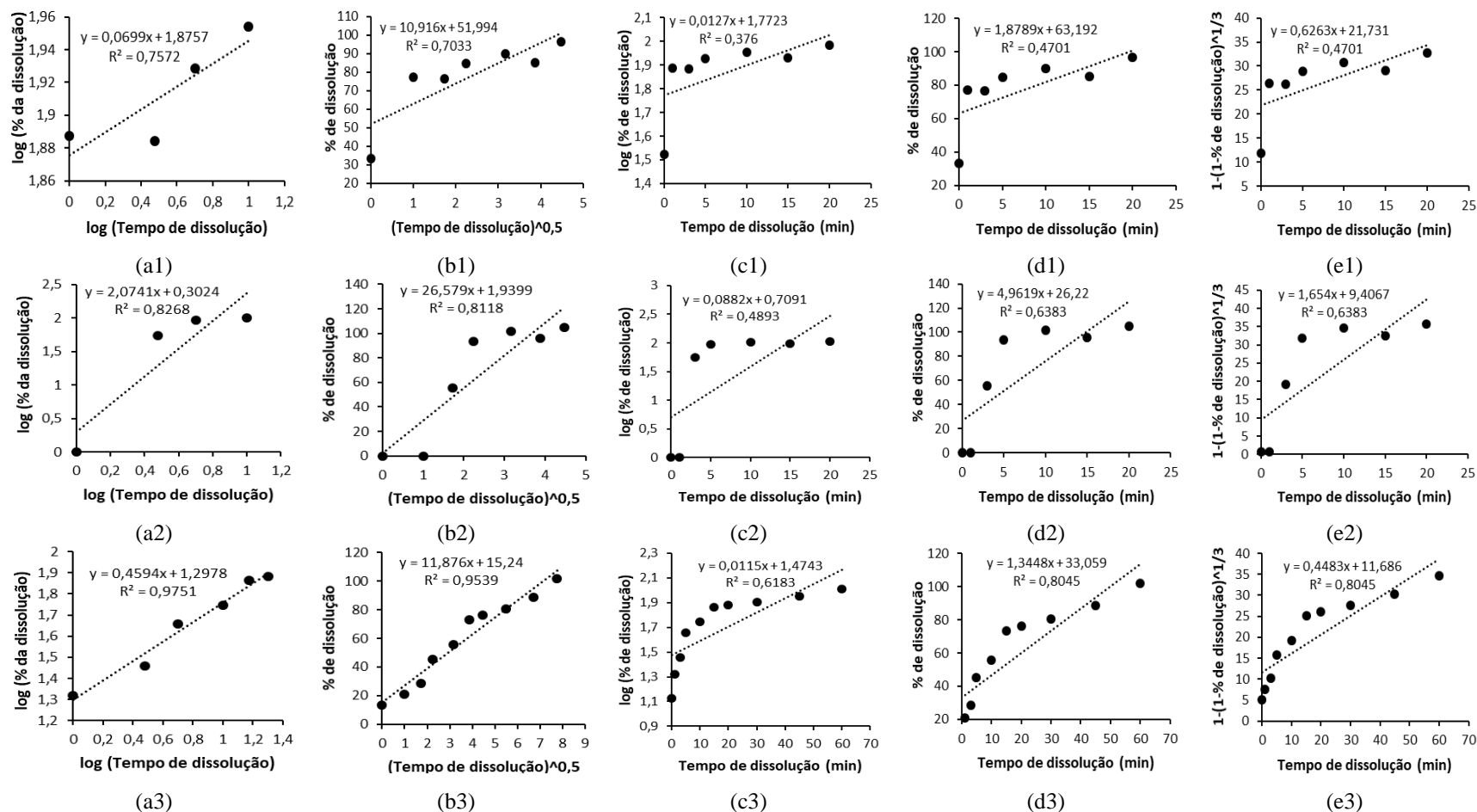


Figura 6.32 - Equações das retas dos vários modelos cinéticos da liberação da teofina: (a) K.- Peppas; (b) Higuchi; (c) 1^a ordem; (d) ordem zero; (e) Hixson-Crowell e (1) [2%κ-car]:[bmim][Ac]_{tf}; (2) [2%κ-car]:[bmim][Ac]_{tfscCO₂}; (3) [2%κ-car]:[KCl]_{tf}.

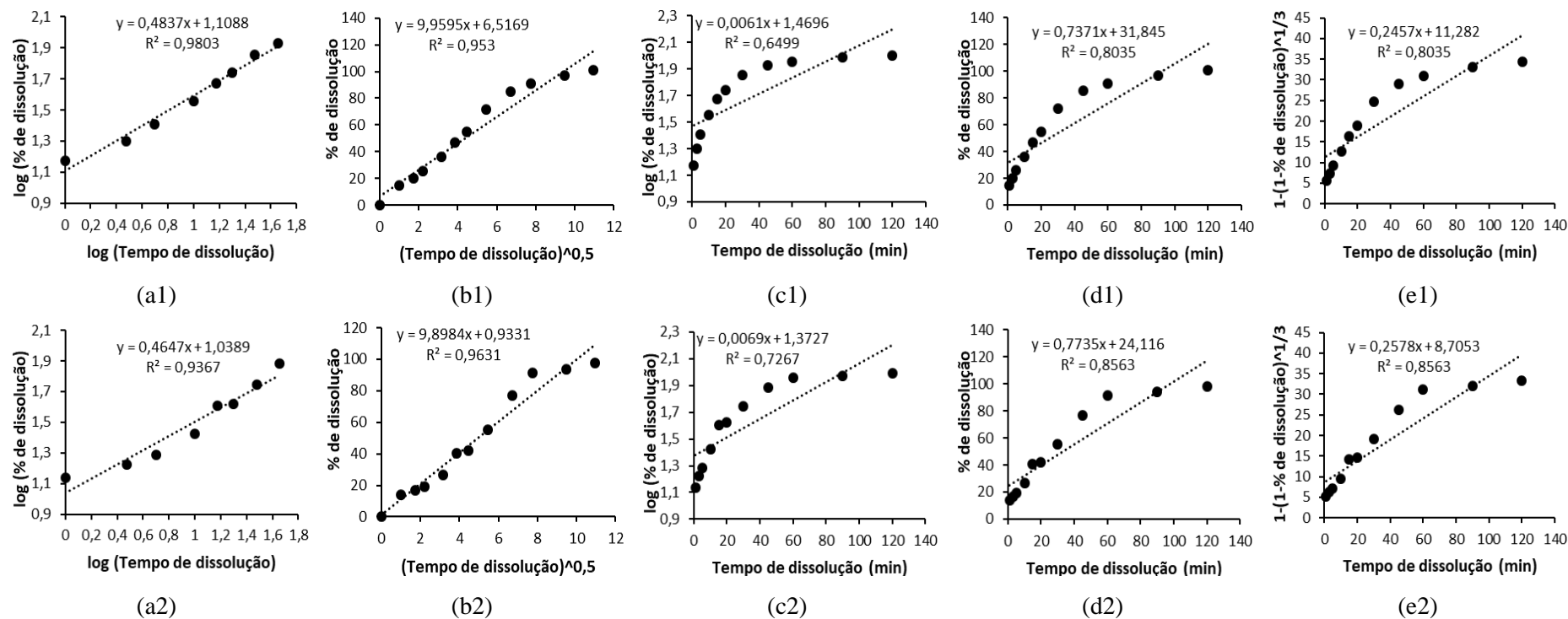


Figura 6.33 - Equações das retas dos vários modelos cinéticos da libertação da tetraciclina: (a) K.- Peppas; (b) Higuchi; (c) 1ª ordem; (d) ordem zero; (e) Hixson-Crowell e (1) [2%κ-car]:[bmim][Ac]_{tc}; (2) [2%κ-car]:[KCl]_{tc}.

6.12. Mecanismo de Korsmeyer-Peppas

Tabela 6.8 - Expoentes para o mecanismo de Korsmeyer-Peppas [72] [73] [74] [69] [70] [71].

Expoente n consoante a geometria			Mecanismo de transporte
Filme	Cilindro	Esfera	
0,5	0,45	0,43	Difusão Fickiana
$0,5 < n < 1,0$	$0,45 < n < 0,89$	$0,43 < n < 0,85$	Transporte anómalo
1,0	0,89	0,85	Transporte caso II
$> 1,0$	$> 0,89$	$> 0,85$	Transporte super caso II